ANNALI
D'IGIENE SPERIMENTALE

PUBBLICATI DAI PROFESSORI

L. ARMANNI (Napoli) — G. BORDONI-UFFREDUZZI (Milano) — P. CANALIS (Genova) — A. CELLI (Roma) — V. DE GIAXA (Napoli) — E. DI MATTEI (Catania) — A. DI VESTEA (PISA) — A. MAGGIORA (Modena) — L. MANFREDI (Palermo) — G. ROSTER (Firenze) — G. SANARELLI (Bologna) — F. SANFELICE (Cagliari) — A. SERAFINI (Padova) — G. SORMANI (Pavia) — G. ZIINO (Messina)

E DIRETTI DAL

PROF. ANGELO CELLI

(Continuazione degli *Annali dell'Istituto d'Igiene sperimentale dell'Università di Roma*)

VOLUME XII (NUOVA SERIE) — ANNO 1902

con due tavole litografiche



ROMA
SOCIETÀ EDITRICE DANTE ALIGHIERI

1902

ANNALI
D'IGIENE SPERIMENTALE

PUBBLICATI DAI PROFESSORI

L. ARMANNI (Napoli) — G. BORDONI-UFFREDUZZI (Milano) — P. CANALIS (Genova) — A. CELLI (Roma) — V. DE GIAXA (Napoli) — E. DI MATTEI (Catania) — A. DI VESTEA (PISA) — A. MAGGIORA (Modena) — L. MANFREDI (Palermo) — G. ROSTER (Firenze) — G. SANARELLI (Bologna) — F. SANFELICE (Cagliari) — A. SERAFINI (Padova) — G. SORMANI (Pavia) — G. ZIINO (Messina)

E DIRETTI DAL

PROF. ANGELO CELLI

(Continuazione degli *Annali dell'Istituto d'Igiene sperimentale dell'Università di Roma*)

VOLUME XII (NUOVA SERIE) — ANNO 1902
con due tavole litografiche



ROMA
SOCIETÀ EDITRICE DANTE ALIGHIERI

1902

INDICE DEL VOLUME XII

dell'Iglesiente, dove l'industria, si può dire, è sempre stata; l'altra la regione che comprende il Sarrabus, il Gerrei e si estende sino al nord nell'Ogliastra.

I minerali che si trovano sono nell'Iglesiente, specialmente, galena e calamina (sotto questo ultimo nome intendonsi industrialmente tutti i minerali ossidati di zinco), indi blenda. La galena è sempre più o meno argentifera, e le giaciture metallifere della Sardegna per quanto riguarda soprattutto ai minerali di piombo si possono distinguere in filoni discordanti dalla stratificazione o filoni propriamente detti, ed in giaciture concordanti colla stratificazione. I primi si dividono in filoni di galena più o meno argentifera a matrice di quarzo, o a matrice di quarzo e baritina, o a matrice di fluorite, o a matrice di quarzo, blenda, siderite e pirite, o a matrice di quarzo con fahlerz, o a matrice di quarzo con calcare. Le giaciture concordanti colla stratificazione comprendono d'ordinario una formazione mista di piombo e zinco, e si dividono in galena e blenda con matrice di anfibolo, quarzo e limonite ed in galena con cerussite e calamina a matrice di argilla calcare, dolomite, quarzo e limonite.

Nel Sulcis, ove sono filoni di spaccature e giacimenti di contatto, i primi sono generalmente di solfuri misti e cioè di blenda, galena, pirite e calcopirite con altri minerali accessori, nei secondi poi frequentemente la separazione dei solfuri si è fatta, ed in parte anzi questi si sono modificati in carbonati.

I minerali misti in filoni formano i giacimenti originari, e si trovano nel Fluminese, nell'Ogliastra, dal Flumendosa a Tortolì, nel Sarcidano, nel Nuorese, alla Nurra. Appaiono anche come impregnazioni del calcare alla base delle grandi masse calaminari come a Malfidano, dove i calcari blendosi che succedono in profondità alle calamine, sono anche galenosi, e contengono pirite e calcopirite.

Il filone del Sarrabus è invece argentifero ed in esso, come in parecchi suoi incrociatori o paralleli, furono e sono coltivati minerali di argento, l'argentite, l'argento rosso, l'argento nativo, insieme o accanto a vene di galena.

Minerali di argento si trovano pure e diedero luogo ad importanti lavorazioni a Correboi presso il Gennargentu (il nome del colosso dell'isola indica la presenza del prezioso metallo) e qua e là nel Fluminese.

La stibina o solfuro di antimonio è coltivata con profitto in un giacimento lenticolare nel Gerrei, a contatto probabilmente del siluriano col devoniano; filoni di stibina si trovano poi in quella regione e andando verso l'Ogliastra e verso il Sarrabus.

Minerali di ferro, magnetite, ferro oligisto ed altri formano filoni e ammassi nel Sulcis e a Monte Ferro a nord di Oristano.

Pirolussite si trova insieme con altri ossidi di manganese e ferro nei terreni vulcanici dell'isola di San Pietro.

Infine esistono filoni con tracce di minerali di nichel e cobalto nella parte orientale del massiccio dell'Iglesiente ed altri di piriti arsenicali, ed altri di minerali diversissimi come un piccolo filone di Wolfram o tungstato di ferro e manganese nel granito presso Donori.

Accanto a tanta ricchezza di minerali metallici esiste infine in Sardegna

un bacino lignitifero importante e per la sua estensione e per la buona qualità di carbone che contiene, il bacino prende nome dal villaggio di Gonnesa, nei cui pressi si estende, e deve la sua prosperità al compianto ingegnere Roux che dedicò tutta la sua vita operosa e intelligente allo sviluppo della industria in Sardegna.

Secondo la forma dei giacimenti, diversi sono i metodi detti di coltivazione, cioè di spoglio e abbattimento del minerale; ma, dovunque, si procede con criteri definiti, avendo in mira due fini fondamentali: lo spoglio successivo di tutto il minerale contenuto in una certa zona limitata in altezza e in dimensioni laterali, la sicurezza del personale che vi lavora.

Nei lavori sotterranei si procede quasi in regola dal basso verso l'alto, riempiendo poi completamente con materiali sterili introdotti per appositi pozzetti, i vuoti che si sono fatti colla escavazione; nei lavori invece all'aperto si procede dall'alto al basso per grandi gradini successivi.

Con queste cure, anche dove una lavorazione intensa ha prodotto cedimento di montagne, si è potuto continuare lo spoglio limitandosi a prendere maggiori precauzioni di sicurezza e senza modificare il piano prestabilito di coltivazione.

Non v'ha esempio in Sardegna che si trasporti minerale a spalla, come pur troppo ancora si vede nella più parte delle miniere di Sicilia; il minerale all'interno è sempre sceso per pozzetti, raramente alzato a mezzo di verricelli o semplici carrucole, fino alle gallerie di carreggio, donde con vagoni esce all'esterno, o va ai pozzi di coltivazione per essere sollevato colle macchine.

Queste sono quasi esclusivamente a vapore.

La relativa poca profondità dei lavori, la natura delle roccie, la nessuna presenza di gas nocivi hanno fatto trascurare gli impianti di ventilazione meccanica, e nelle miniere di Sardegna non sono stati sinoggi applicati che ventilatori di modestissime proporzioni, e generalmente mossi a mano; un solo esempio esiste di ventilatore meccanico, animato da un motore elettrico, nella miniera di Nebida.

Dove invece l'industria sarda delle miniere ha progredito, passando anche avanti a quanto si è fatto in molte regioni dell'estero, si è nel lavaggio dei minerali.

I minerali si trovano assieme a roccie, o ganghe che sono o saldamente attaccate o assai intimamente mescolate ai minerali stessi.

Talvolta nella escavazione si trovano pezzi di minerale puro, che tali come sono vanno ai forni o alle fonderie; ma nel più dei casi ciò che esce dalla miniera deve essere scelto e si fanno, in regola generale, tre categorie di prodotti: i ricchi che possono passare ai forni; gli sterili, o roccie, esenti da minerali utili che si gettano, ed una grande quantità di prodotti intermedi, i quali non contengono abbastanza metallo per essere commerciabili, ma che d'altra parte non debbono essere perduti. Questo materiale che in ogni miniera costituisce la più grande parte della produzione è quello che va al lavaggio o preparazione meccanica.

In grandi stabilimenti, appositamente eretti, queste materie sono frantumate, poi macinate o, quando sieno mescolate a creta, sono sfangate, ed indi passano ad una serie di apparecchi formati di tele forate a fori di diverse dimensioni e così classificate in grani di uguale grandezza. Ogni

classe di grani passa indi ad altro apparecchio che si chiama crivello, dove, scossi in mezzo all'acqua, i grani si distribuiscono secondo la loro densità, andando i più pesanti, e cioè i più ricchi di metallo, al fondo, e restando gli altri alla superficie. La parte finissima, polvere quasi impalpabile, è pure ugualmente divisa in porzioni, più ricca o meno ricca, sopra tavole o tele di caoutchouc, dove, o la forza centrifuga che si ottiene con un movimento circolare, o le scosse insieme a getti d'acqua opportunamente distribuiti danno la separazione desiderata.

La preparazione meccanica adunque ha per iscopo di concentrare in minore quantità il metallo disseminato in una più grande; e il risultato è quello di ottenere da una grande massa di materia, che tale e quale si trova non è utilizzabile, una piccola parte di materia utile.

I più grandi impianti di questo genere si trovano nell'Iglesiente, e degne di menzione sono le laverie delle miniere Monteponi, Malfidano, Nebida, Su Surfuru appartenente alla Pertusola e quella ultimamente impiantata a Rosas.

A Monteponi dove le calamine sono congiunte ad ossidi di ferro, difficilmente separabili con la preparazione meccanica, si calcinano i prodotti della laveria in forni rotativi, nei quali l'azione del fuoco fa divenire magnetici gli ossidi di ferro, i quali, passando indi il materiale innanzi a potenti elettro-calamite, sono attratti e quindi espulsi.

A Monteponi ancora si ha un esempio di separazione di carbonati di piombo e zinco intimamente mescolati; le materie devono essere macinate a dimensioni piccolissime per poter ottenere i due prodotti distinti. Qui fu applicato per la prima volta, con successo, il nastro o tela senza fine, che prende nome dal Ferraris, direttore di quelle miniere.

La laveria meccanica di Su Surfuru tratta minerali misti che sono macinati e rimacinati per mezzo di cilindri, e ridotti in grani finissimi; ottiene galena assai ricca da un minerale che contiene una porzione quasi uguale di solfuri di piombo e zinco con pirite di ferro e di rame.

A Rosas la macinazione si fa con un mulino a palle ed i grani che escono hanno la dimensione di un millimetro. In genere il minerale trattato è misto a solfuri di piombo, zinco, ferro e rame.

Non vi sono classificatori di grandezza, e ciò che esce dal mulino passa subito ai classificatori per densità. Si ottiene così galena quasi pura.

Molte e molte sono le laverie esistenti, ed oltre a quelle citate si ricordano quelle di S. Giovanni, le due della Società di Gennamari Ingurtosa, quelle di Montevecchio.

Le laverie meccaniche esigono generalmente una grande forza motrice, e questa è in regola generale il vapore.

L'elettricità è stata applicata già in ampia scala nelle miniere di Sardegna, generata però quasi esclusivamente da motori a vapore.

La luce elettrica esiste in parecchie miniere da molti anni, e sono generalmente illuminate le laverie e gli uffici, gli ospedali, ecc. Si hanno esempi di trasmissione di forza a Malfidano, a S. Giovanni, a Nebida; nelle due prime miniere la forza trasmessa a corrente continua fa funzionare perforatrici nelle gallerie; a Nebida invece l'impianto, dei più moderni che esistano, serve per una pompa ed un ventilatore.

All'esterno delle miniere tutti i mezzi di trasporto fanno loro mostra, e

tutte le forze della natura sono utilizzate a seconda dell'importanza e della situazione dei giacimenti.

Così per i generatori del vapore e per le macchine trovansi caldaie di tutte le forme e grandezze, a focolare esterno o interno, a tubi di fiamma, a tubi di acqua, verticali, orizzontali, fisse, semifisse, macchine di piccola e grande potenza, a condensazione e senza, a un cilindro e a due, a semplice e duplice espansione, macchine lente, a grande velocità, a distribuzione a scatto, a valvole, insomma tutti i tipi che la meccanica ha scoperto, e che si sono applicati successivamente o sostituiti coll'ampliarsi ed il progredire dei lavori.

Eguale varietà e perfezione di apparecchi si trova nelle laverie, dove tutto quello che è l'ultima parola della scienza e dell'industria è sperimentato. Ed accanto a tanta diversità di macchine e congegni sono necessarie e sono in attività officine meccaniche di riparazione con tutto il loro corredo di macchine, utensili per lavorare i metalli ed il legno e fonderie per bronzo e ghisa.

Infine, perchè la calamina non è spedita alle fonderie che dopo essere stata calcinata, in tutte le miniere che producono tale minerale, trovansi forni.

Le calamine in pezzi grossi sono calcinate in forni poco dissimili da quelli continui a calce; quelle minute e specialmente quelle che escono dalle laverie sono, in regola generale, calcinate in forni rotativi del tipo Oxland; il moto è impresso da macchine, ed i forni sono talvolta ad iniezione d'aria sotto pressione.

Un tipo speciale di forni a cascata si trova a Monteponi per calcinare i prodotti della laveria Mameli.

Veramente floridissima è la industria del piombo in Italia, e a dimostrarlo valgono i seguenti cenni che troviamo nella conferenza del professore Zoppetti sulle industrie estrattive di origine mineraria alla esposizione nazionale italiana del 1881. « Il piombo è splendidamente rappresentato dalla officina veramente grandiosa della ditta G. Henfrey e Comp. di Pertusola nel golfo della Spezia. In questa officina che tratta le galene italiane e specialmente della Sardegna si compie pure la disargentazione dei piombi d'opera mediante zincaggio coi processi più moderni.

« La lavorazione in essa ha preso uno sviluppo ragguardevolissimo poichè nel 1880 trattò ben 16,675 tonnellate di minerale, ottenendone tonnellate 11,065,700 di piombo mercantile e ben 33,588 chilogrammi di argento, e quindi una totale produzione annua il cui ammontare tocca lire 9,150,000, procurando nel tempo stesso lavoro ad oltre 1000 operai.

« Il prodotto di questa sola grande officina ci emancipa intieramente dall'estero pei bisogni di piombo e di argento.

« Essa tratta circa metà della produzione delle miniere di piombo del nostro Regno. »

I minerali di piombo sono venduti secondo certe formole, nelle quali i termini variabili sono il contenuto in piombo ed il prezzo di detto metallo sui mercati, e quelli costanti sono la perdita del metallo nel trattamento metallurgico, il costo di esso, la spesa di trasporto calcolata in modo da compensare le perdite, le spese accessorie ed il benefizio del fonditore. Per minerali del titolo di 60 e 80 per cento, la perdita nel trattamento si ri-

tiene dalle 7 alle 9 unità, la spesa di trattamento da 60 a 70 lire per tonnellata di minerale. Per cui i minerali piombiferi del titolo indicato possono lasciare un margine di 170 a 270 lire per tonnellata secca data a bordo.

L'argento contenuto in varia proporzione in tutti i minerali piombiferi della Sardegna viene pagato in più a ragione di centesimi 21 per grammo, con deduzione per la spesa di disargentazione della somma di lire 60 per tonnellata di piombo.

Le miniere dell'isola diedero nel 1898 una produzione del valore di oltre 16 milioni, ed impiegavano più che 12,000 operai; i risultati approssimativi del 1899 sono che il valore della produzione ha superato lire 28,000,000 ed il numero degli operai ha sorpassato i 15,000. È dunque una industria che costituisce un importantissimo fattore della ricchezza nazionale, e rappresenta una parte assai grande del commercio della Sardegna.

Si noti poi che in dipendenza delle miniere si ha un movimento marittimo considerevole, e ne sentono vantaggio le ferrovie ed i porti, in ispecie Cagliari e Carloforte.

Quindi al numero di operai ora enunciati devonsi aggiungere tutti coloro che comunque scaricano e caricano minerali e mercanzie per le miniere; ed il numero delle persone che vivono della o per l'industria mineraria diventa ancora più grande.

La grande importanza della industria mineraria in Sardegna ci ha spinto ad istituire una serie di ricerche per studiare da un lato i componenti fisici, chimici e batteriologici dell'aria delle gallerie a varia profondità, e dall'altro le condizioni di vita degli operai, raccogliendo con apposite circolari le notizie che più c'interessavano o interrogando direttamente gli operai.

II.

Ci siamo limitati a fare l'*esame fisico, chimico e batteriologico dell'aria delle gallerie* nella sola miniera di Montevecchio, una delle più importanti della Sardegna. Come abbiamo detto nella parte generale da quasi tutte le miniere sarde si ricavano gli stessi minerali, ed i metodi di escavazione sono sempre uguali, di guisa che i risultati avuti dalle ricerche fisiche, chimiche e batteriologiche istituite nelle varie gallerie di una miniera valevano anche per le altre.

Sentiamo innanzi tutto il dovere di ringraziare infinitamente il Direttore della miniera di Montevecchio ingegnere Castoldi, per

averci concesso il permesso di eseguire le presenti ricerche, gli ingegneri Mezzena, De Martis e Carloni per le grandi cortesie che ci hanno usate, e tutto il personale della miniera che ci ha accompagnato nelle gallerie sottoponendosi ad un non lieve lavoro. Sentiamo poi anche il dovere di ringraziare le direzioni di tutte le miniere che con sollecitudine e cortesia hanno risposto alle domande loro rivolte.

Il prodotto principale della miniera di Montevecchio è la galena (solfuro di piombo); secondario la blenda (solfuro di zinco).

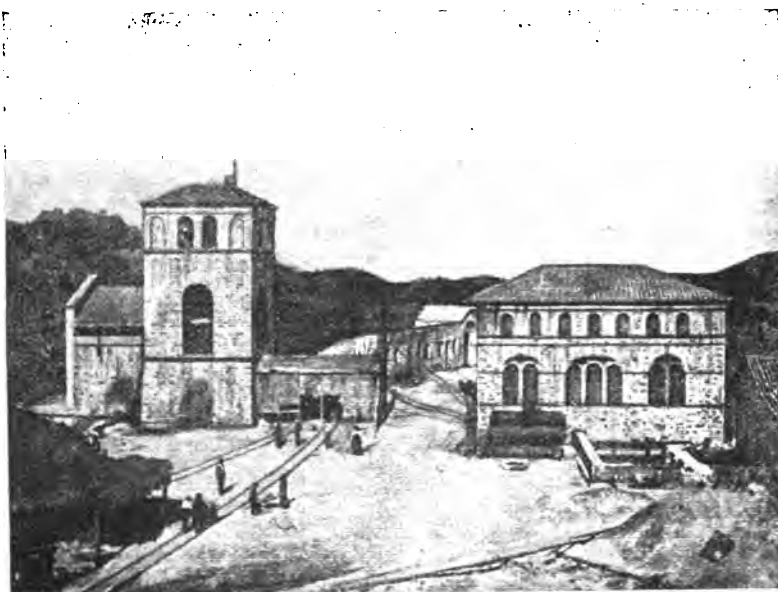


Fig. I.

Il numero degli operai è di 1700 di cui 1492 sono sardi e 208 continentali.

Nei piazzali e nelle laverie sono impiegate anche le donne dei vicini paesi di Arbus e Guspini ed i fanciulli di età superiore ai 12 anni. La durata del lavoro è di 8 ore e la media delle giornate annuali può ritenersi di 300 circa.

La Società di Montevecchio ha costruito molte case comode e decenti per abitazione degli operai, e le concede loro gratuitamente.

Alla miniera è annesso un ospedale, una farmacia ed una scuola

per impartirvi gratuitamente l'insegnamento elementare ai figli degli impiegati e degli operai dello stabilimento.

Andando incontro a forti spese la Società ha costruito un vasto cisternone per l'acqua potabile della capacità di 4000 metri cubi.

Quattro sono i cantieri della miniera di Montevecchio, di cui due, Sanna e Telle, a ponente, e due, S. Antonio e Piccalina, a levante. A ciascuno dei cantieri, come si rileva dalle fotografie annesse, appartiene il locale ove si trova il pozzo con le gabbie per



Fig. II.

discendere nelle gallerie, il locale ove si esegue la cernita del minerale e la laveria. (Vedi fig. I e II).

Le varie ricerche sull'aria sono state fatte nelle gallerie di Sant'Antonio e Piccalina.

Il pozzo S. Antonio ha quattro livelli, di cui il primo denominato Anglo-Sarda si trova a 30 metri di profondità; il secondo denominato Ignazia si

trova a 68 metri di profondità; il terzo denominato Enidina si trova a 108 metri di profondità; il quarto denominato Zelì si trova alla profondità di 150 metri.

Alla imboccatura del pozzo ciascun livello presenta uno spazio cui si dà il nome Ricetta e da questa parte la galleria principale che poi si continua in gallerie secondarie.

Le ricerche al primo livello furono fatte in due luoghi; nella Ricetta presso alla imboccatura del pozzo e al numero 11 un luogo abbastanza distante dalla Ricetta.

La Ricetta presenta una altezza di metri 3.50, una lunghezza di metri 2.50 ed una larghezza di metri 3.50. Ha la capacità di metri cubi 30.62.

Il numero 11 situato alla profondità di 30 metri dalla superficie del suolo presenta una lunghezza di metri 6, una larghezza di metri 6.50, una altezza di metri 2.50. Ha la capacità di metri cubi 97.50. Presenta quattro sbocchi di cui uno cieco. Le dimensioni degli sbocchi sono di metri 2 × 2. Il fondo cieco della volta ha la lunghezza di metri 4 e mezzo.

Al secondo livello furono fatte le ricerche in quattro luoghi:

nella Ricetta Ignazia, alta metri 3, larga metri 2.50, lunga metri 2.60, della capacità di metri cubi 19.50 con una apertura verso il pozzo alta metri 2.30, larga m. 2.40; a sinistra di chi guarda il pozzo vi è una galleria alta metri 2.30, larga 2.70, profonda metri 8.70; alle spalle di chi guarda il pozzo vi è un'altra galleria alta metri 2.30, larga metri 2.40, profonda metri 74.30;

nel pozzo n. 6 di ponente, alto metri 3, largo metri 3.50, lungo metri 4.15, della capacità di metri cubi 43.57; gli sbocchi al numero di due sono della altezza di 2 metri e della larghezza di metro 1.55; questo luogo è distante dalla Ricetta Ignazia circa 500 metri e si trova allo stesso livello della Ricetta cioè a 68 metri di profondità dalla superficie del suolo; in uno degli angoli di questo luogo vi è una apertura di cent. 70 × 70 che fa comunicare il pozzo n. 6 di ponente col pozzo sottostante che ha una lunghezza di metri 3.45, una larghezza di metri 2.55 ed una profondità di metri 22;

nel gradino n. 8 che è una grande escavazione di cui è impossibile stabilire la cubatura data la sua grandissima altezza;

nel livello intermedio n. 5 *bis*, fra Ignazia ed Enidina, alto metri 4, largo metri 3.50, lungo metri 60, della capacità di metri cubi 840, alla profondità di 88 metri dalla superficie del suolo, distante dal pozzo circa 550 metri e distante dal pozzo n. 6 circa 80 metri.

Al terzo livello le ricerche si fecero in tre luoghi: nella Ricetta Enidina della larghezza di metri 2.40, della lunghezza di metri 7.65, dell'altezza di metri 2.30, della capacità di metri cubi 39.92, alla profondità, come abbiamo detto innanzi, di metri 108 dalla superficie del suolo:

in una Ricetta più interna della larghezza di metri 6, della lunghezza di metri 6 e dell'altezza di metri 3.50, della capacità di metri cubi 126;

in un avanzamento della larghezza di metri 2.30 e dell'altezza di metri 2, comunicante con una lunga galleria.

Al quarto livello non si potettero fare le ricerche perchè vi era molta acqua.

Nel Pozzo Piccalina, il quale presenta anche vari livelli ci siamo limitati ad eseguire le ricerche nel secondo e terzo livello.

Il secondo livello si trova alla profondità di metri 60 dalla superficie del suolo; il terzo livello si trova alla profondità di metri 100.

Al secondo livello abbiamo eseguite le ricerche in due luoghi, nella ricetta presso alla imboccatura del pozzo e nel numero 3 distante dalla Ricetta circa 400 metri.

La Ricetta presentava una larghezza di metri 3.50, una lunghezza di metri 6 ed un'altezza di metri 3, della capacità di metri cubi 60.

Il numero 3 presentava l'altezza di metri 2, la larghezza di metri 2.50 e la lunghezza era data dalla intiera galleria.

Al terzo livello eseguimmo le ricerche in 3 luoghi:

nella Ricetta presso alla imboccatura del pozzo, della larghezza di metri 4, dell'altezza di metri 2.70, della lunghezza di metri 7, della capacità di metri cubi 75.60;

in un luogo distante 200 metri dalla Ricetta dell'altezza di metri 2.50, della larghezza di metri 2.50 e di una considerevole lunghezza data dalla intera galleria;

in un avanzamento (fondo cieco della stessa galleria) distante dalla Ricetta metri 250, della larghezza di metri 2.50 e dell'altezza anche di metri 2.50; in questo avanzamento vi è un pozzo che sale al secondo livello.

Ricerche di controllo furono fatte nell'ambiente ove si discende nel pozzo e nella foresteria che insieme con la casa della Direzione, con l'ospedale e la scuola elementare si trova ad un livello superiore a quello del cantiere Sant'Antonio e del cantiere Piccalina.

Quanto alle ricerche fisiche abbiamo studiata la *temperatura*, la *pressione barometrica,* la *umidità* e la *ventilazione*.

Per la temperatura abbiamo fatto uso di termometri centigradi esattamente verificati; per la pressione barometrica ci ha servito un barometro Fortin, anche esso esattamente verificato; per la umidità abbiamo fatto uso dello psicrometro e per la ventilazione ci ha servito un anenometro dinamico costruito sullo stesso principio degli anenometri di Combes e di Morin, il quale essendo destinato ad indicare la velocità della corrente d'aria che passa nei condotti di ventilazione poteva dare buoni risultati per misurare la velocità delle correnti di aria nelle gallerie che ben possono paragonarsi ai condotti di ventilazione.

Nella seguente tabella sono segnati i risultati delle ricerche fisiche praticate nelle gallerie del Pozzo Sant'Antonio:

	Temperatura centigrada	Pressione barometrica	Deficit di saturazione	Velocità del vento per minuto primo in metri
Primo livello:				
Aria esterna, 27-5-1901.	19.3	736	4.32	—
Ricetta Anglo-Sarda, 27-5-1901. .	17	739	1.05	0.26
Aria esterna, 25-5-1901.	18	732	2.77	—
Anglo-Sarda II, 25-5-1901. . . .	27	735	2.08	0
Secondo livello:				
Aria esterna, 10-5-1901.	16.4	737	4.20	—
Ricetta Ignazia, 10-5-1901. . . .	16	743	0.23	0.09
Aria esterna, 11-5-1901.	17.2	737	3.30	—
Ignazia n. 6, 11-5-1901.	22.1	743	0.99	1.4-0.5
Aria esterna, 20-5-1901.	20.2	738	7.85	—
Ignazia gradino 8, 20-5-1901. . .	24.2	745	0.66	0
Aria esterna, 18-5-1901.	21.1	735	6.10	—
Livello intermedio 5, 18-5-1901. .	20.2	743.3	1.46	0
Terzo livello:				
Aria esterna, 12-5-1901	17.2	735	3.72	—
Ricetta Enidina I, 12-5-1901. . .	15.2	745	0.23	—
Aria esterna, 26-5-1901	19.1	735	1.84	—
Ricetta Enidina II, 26-5-1901. . .	17.2	746	1.28	0.3
Aria esterna, 19-5-1901	18.3	736.9	4.35	—
Avanzamento Enidina, 19-5-1901 .	21.3	746.8	3.55	0

In tutti quei luoghi ove il ricambio dell'aria è considerevole e vi è acqua quasi in permanenza che bagna il pavimento e le pareti (tali sono le condizioni in cui si trovano le ricette) la temperatura dell'aria è stata trovata inferiore a quella dell'aria esterna. Invece nei luoghi lontani dalla ricetta ove il rinnovamento dell'aria è scarsissimo o quasi nullo e manca del tutto l'acqua, la temperatura è stata trovata superiore a quella dell'aria esterna. Ad aumentare la temperatura in questi luoghi concorre la presenza degli operai e delle lampade.

La *temperatura elevata accompagnata da un minimo deficit di saturazione* è di danno agli operai tanto che essi rifiutano di lavorare se la direzione non impianta un ventilatore. Certo non hanno torto, perchè non deve essere agevole il lavoro in quei luoghi ove la temperatura è elevata ed il deficit di saturazione è minimo. Sappiamo infatti che un deficit di saturazione minimo accompagnato da una temperatura elevata limita una delle più importanti vie destinate alla perdita del calore animale, e ne facilita con ciò l'accumolo.

La ventilazione che è scarsissima o nulla negli avanzamenti, meno scarsa nelle gallerie secondarie e primarie, si compie per mezzo del pozzo, e si comprende facilmente che, essendo la temperatura nelle gallerie anche a piccola profondità poco diversa nel corso dell'anno dalla temperatura esterna, si stabilisce secondo che l'aria esterna è più calda o più fredda dell'aria della galleria una corrente che nel primo caso va dalla galleria allo esterno, nel secondo caso dallo esterno alla galleria.

Se non vi sono agli estremi delle lunghe gallerie o lungo il loro tortuoso percorso delle aperture di comunicazione con gli altri livelli, si ha facilmente qualche luogo, ove manca un attivo ricambio di aria.

Nella seguente tabella sono segnati i risultati delle ricerche fisiche praticate nelle gallerie del pozzo Piccalina.

	Temperatura centigrada	Pressione barometrica	Deficit di saturazione	Velocità del vento per minuto primo in metri
Secondo livello:				
Aria esterna, 11-6-1901.	22.4	740.9	3.5	—
Ricetta 2° livello, 11-6-1901. . .	18.4	741.9	1.45	0
Aria esterna, 11-6-1901.	24.2	741	3.5	—
Num. 3, 2° livello, 11-6-1901 . .	21.3	746	1.8	0
Terzo livello:				
Aria esterna, 8-6-1901	26 1	743	10.27	—
Ricetta 3° livello, 8-6-1901 . . .	19.4	749.9	0.18	0.02
Aria esterna, 9-6-1901	23.2	743	8.55	—
Num. 2, 3° livello, 9-6-1901. . .	20.3	749.7	0.95	0.06
Aria esterna, 10-6-1901.	23.4	742	5.82	—
Avanzamento 3°, 10-6-1901 . . .	27.2	750	4.55	0

I risultati delle ricerche fisiche eseguite nelle gallerie del pozzo Piccalina sono concordi con quelli innanzi riferiti.

I *componenti chimici* da noi ricercati nell'aria delle gallerie sono stati i seguenti: ossigeno, acido carbonico, ossido di carbonio, acido nitrico, acido nitroso, sostanze organiche calcolate in ossigeno cousumato ed ammoniaca. I risultati sono espressi nella seguente tabella:

	Ossigeno %	Acido carbonico ‰	Ossido di carbonio	Acido nitrico ‰	Acido nitroso	Ossigeno consumato ‰	Ammoniaca
Pozzo di S. Antonio:							
Aria esterna.	20. 9	0. 3	0	0 0004	Tracce	0 000002	Tracce
Ricetta Anglo-Sarda. . .	20. 8	3. 7	»	0. 0004	»	0. 000001	»
Anglo-Sarda II.	20. 5	1. 2	»	0 0004	»	0 000001	»
Ricetta Ignazia.	20. 20	0. 3	»	0. 0004	»	0. 000005	»
Ignazia num. 6.	19. 10	2. 2	»	0. 001	»	0. 000007	»
Ignazia gradino 8. . . .	18	8. 3	»	0. 001	»	0. 000003	»
Livello intermedio 5 . .	18. 6	0. 9	»	0. 007	»	0. 000005	»
Ricetta Enidina I. . . .	20	1. 4	»	0. 0005	»	0. 000005	»
Ricetta Enidina II . . .	20	0. 4	»	0. 0005	»	0. 000001	»
Avanzamento Enidina . .	19. 3	6. 1	»	0. 008	»	0. 000005	»
Pozzo di Piccalina:							
Ricetta 2° livello. . . .	20	1. 8	»	0. 0004	»	0. 000003	»
Num. 3, 2° livello. . .	20	1. 9	»	0 001	»	0. 000003	»
Ricetta 3° livello. . . .	20	1. 9	»	0. 0004	»	0. 000002	»
Num. 2, 3° livello . . .	20	1. 9	»	0. 006	»	0. 000004	»
Avanzamento 3° livello .	20	1. 5	»	0. 0004	»	0 000005	»

I metodi da noi seguiti per le determinazioni e ricerche dei singoli componenti chimici dell'aria sono quelli che più comunemente si seguono e che danno risultati più attendibili, e però ci dispensiamo dal descriverli minutamente.

Per far passare l'aria attraverso i liquidi destinati a trattenere il componente chimico che si voleva determinare o ricercare, invece di usare i comuni aspiratori troppo incomodi ad essere trasportati nelle gallerie, abbiamo fatto uso della pompa Petri, la cui esattezza è stata verificata con apposita serie

questi esperimenti, non era chiuso in maniera da non permettere il ricambio dell'aria, ed anzi presentava in diversi punti delle pareti fenditure più o meno ampie. La quantità di acido carbonico prodotto dalle lampade basterebbe da sola a spiegare il quantitativo di questo gas esistente nell'aria delle gallerie, indipendentemente dalle quantità di acido carbonico prodotte dalla respirazione, dalla esplosione delle sostanze esplosive e dai processi di decomposizione e putrefazione che avvengono nelle vecchie gallerie.

Sapendo che l'*ossido di carbonio* si può sviluppare per la combustione incompleta e per la cattiva qualità della sostanza esplosiva, o quando la carica è troppo debole, abbiamo ricercato questo gas nell'aria delle gallerie. Il risultato, come si rileva dalla tabella precedente, è stato costantemente negativo anche quando abbiamo fatto passare attraverso la soluzione di cloruro di palladio grandissima quantità di aria.

In alcuni luoghi delle gallerie, abbastanza lontani dal pozzo e dove si ha esplosione delle sostanze esplosive, abbiamo trovato una quantità di acido nitrico superiore a quella che si riscontra nell'aria esterna.

La scarsissima quantità di *ammoniaca* trovata potrebbe far supporre che la maggiore quantità di acido nitrico nell'aria delle gallerie potesse stare in rapporto con la esplosione delle cartucce di dinamite che ordinariamente si fanno esplodere tre volte nelle ventiquattro ore, cioè alla mezzanotte, alle ore venti ed alle quindici nello intervallo che una squadra di operai è sostituita dall'altra.

Sappiamo infatti dalle ricerche di Stapff, Georgi e Charon (1) che *i gas della dinamite* contengono nitroglicerina indecomposta ed anche biossido di azoto ed acido nitroso, e se gli operai ritornano là dove hanno esploso le mine, prima che i gas della esplosione sieno dileguati, cadono in uno stato di ubbriachezza, soffrono bruciore alle palpebre ed hanno accessi di soffocazione e tosse. Anche noi entrando in gallerie ove da qualche ora era avvenuta la esplosione delle mine, abbiamo avvertito un malessere generale ed un senso di soffocazione

Certo si è che molti minatori attribuiscono parte delle loro sofferenze allo impiego delle nuove sostanze esplosive ed ai gas prodotti nell'atto della esplosione. Il fatto però sarebbe in aperta contraddizione colla teoria chimica delle dissociazioni, secondo la quale

---

(1) Citati da Meisner, *Hygiene der Berg. und Tunnelarbeiter*. Jena, 1895.

non si può in alcuu modo ammettere la esistenza di tali gas deleterii fra i prodotti della detonazione di un derivato nitrico esplosivo. La grande potenza di schianto del fulmicotone e della nitroglicerina non si può spiegare che dalla enorme temperatura ingenerata dall'atto esplosivo; e la teoria qui si accorda colla pratica per dimostrare che a tali altissime tempetature non può sussistere alcun composto chimico un po' complesso ed in ispecie il biossido di azoto.

Ad ogni modo il disaccordo esiste, ed esso si fonda sul fatto che realmente dal brillamento di certe mine allestite coi nuovi esplosivi si sprigionano gas nocivi alla respirazione. Ma siffatto inconveniente, che diventa gravissimo nelle gallerie scavate a fondo cieco, non dipende dalla sostanza esplosiva, ma dal modo d'impiegarla. La produzione dei vapori dannosi all'organismo nelle mine caricate coi derivati nitrici esplosivi, altro non prova che l'imperizia o la noncuranza di chi allestì la carica. Basta infatti che non si assicuri convenientemente la miccia d'innesco dentro il cappellozzo fulminante, e questo nella cartuccia, perchè abbiasi invece di una esplosione di primo grado, quella di secondo grado, oppure anche la semplice infiammazione.

Nei quali due ultimi casi oltre che gli effetti distruttivi risultano inferiori a quelli che sarebbero stati prodotti dalla detonazione propriamente detta, si hanno per giunta i vapori deleteri dell'acido ipoazotico.

Il Nobel eseguì numerose esperienze dentro gallerie bene e male ventilate, senza che mai abbia potuto rilevare nell'atmosfera di esse gallerie l'esistenza degli ossidi inferiori dell'azoto.

Giova a questo proposito citare il lavoro di Sarrau e Vieille, nel quale detti chimici si proposero di determinare la natura e la quantità dei prodotti formati dalla detonazione e dalla semplice esplosione:

1° del fulmicotone puro;

2° di una miscela di parti uguali di fulmicotone e di nitrato di potassa;

3° di una miscela di 40 parti di fulmicotone e 60 di nitrato di ammonio;

4° della nitroglicerina.

La tavola seguente indica in litri il volume di ciascuno dei gas per ogni chilogramma della sostanza.

1° *Combustione sotto forte pressione o detonazione.*

	CO	CO^2	H	Az	O	Volume totale — Litri
Fulmicotone puro	234	234	166	107	»	741
Id. con nitrato di potassa. .	»	171	»	100	45	325
Id. con nitrato di ammonio .	»	184	»	211	6	401
Nitroglicerina.	»	295	»	147	25	467

2° *Combustione sotto debolissima pressione.*

	AzO^2	CO	CO^2	H	C^2H^4	Az	Volume totale — Litri
Fulmicotone puro	139	237	104	45	7	33	565
Id. con nitrato di potassa. .	71	58	57	3	»	7	196
Id. con nitrato di ammonio .	122	65	103	12	»	112	414
Nitroglicerina.	218	262	58	7	1	6	452

Da quanto innanzi abbiamo esposto intorno ai componenti fisici e chimici dell'aria delle gallerie risulta chiaro che una lunga dimora in miniera non deve essere indifferente alla salute degli operai. **Insieme con l'aria altri fattori concorrono ad indebolire l'organismo, e così ci spieghiamo quanto ci scriveva l'egregio ingegnere Castoldi nella sua relazione: « I lavori in genere delle miniere di Montevecchio non sono da ritenere nocivi alla salute, nè pregiudicano a nostro modo di vedere l'attività e la potenzialità di moltiplicazione delle famiglie operaie. Certo è però che la vita del minatore che lavora in galleria, dopo un lungo numero di anni, ancorchè non sia causa di serie malattie acute, esaurisce l'organismo e ne affievolisce o spegne l'attività e la energia fisica e morale. »**

In tutti quei luoghi ove sono state eseguite le ricerche fisiche e chimiche sono state fatte anche *ricerche batteriologiche e determinazioni del pulviscolo atmosferico.*

L'analisi batteriologica quantitativa è stata fatta per mezzo dei tubi di vetro aventi una strozzatura nel mezzo riempita da ovatta, attraverso la quale al momento dell'esperimento si faceva passare una considerevole quantità di aria.

Per l'analisi batteriologica qualitativa, per conoscere cioè tutte le specie di microrganismi che esistevano nell'aria delle miniere, si esponevano per una o due ore delle scatole di Petri con agar glicerinato.

Per le determinazioni del pulviscolo atmosferico abbiamo usato tubi di vetro con strozzatura nel mezzo riempita di ovatta, attraverso la quale si faceva passare una considerevole quantità di aria. I tubi di vetro con l'ovatta si pesavano con bilancia di precisione prima dell'esperimento e dopo. L'aumento di peso dava la quantità del pulviscolo atmosferico.

Nella seguente tabella sono esposti i risultati delle analisi batteriologiche e delle determinazioni del pulviscolo atmosferico.

	Microrganismi per litro	Polviscolo per metro cubo
		Grammi
Aria esterna	1500	0. 0004
Ricetta Anglo-Sarda	6000	0. 0002
Anglo-Sarda n. II	5	0 0006
Ricetta Ignazia	60	0 0001
Ignazia num. 6	5	0. 0007
Ignazia gradino 8	1	0. 0005
Livello intermedio 5	2	0. 0008
Ricetta Enidina I	4	0. 0001
Ricetta Enidina II	1	0. 0002
Avanzamento Enidina	3	0. 0009
Aria esterna	2500	—
Ricetta Piccalina 2° livello	2	0. 0001
Num. 3, 2° livello	1	0. 0002
Ricetta Piccalina 3° livello	2	0. 0001
Num. 2, 3° livello	1	0. 0007
Avanzamento 3° livello	2	0. 0002
Aria esterna	3560	—

Lo *scarso numero di germi contenuti nell'aria delle miniere* può spiegarsi per le condizioni di umidità in cui si trovano i pavi-

menti e le pareti della maggior parte delle gallerie. Circa alla qualità la flora batterica delle miniere è uguale a quella dell'aria esterna. Le medesime specie che si riscontrano sulle piastre esposte all'aria esterna abbiamo trovato sulle piastre esposte all'aria delle galleria.

Sui tronchi di castagno che servono a sostenere le volte di alcune gallerie, specialmente nei luoghi ove la temperatura è abbastanza elevata e sul pavimento vi è considerevole quantità di acqua, si vedono dei bellissimi fiocchi bianchi, come bambagia, appartenenti alle vegetazioni di una muffa, il *Penicillium glaucum*, che con la umidità e col calore si sviluppa molto rigogliosamente, ma per la assenza completa di luce non dà luogo alla produzione del colore caratteristico. Abbiamo potuto far riprodurre questa muffa nel laboratorio ed essere così certi che si tratta del *Penicillium glaucum*.

Abbiamo anche voluto vedere se tra i microrganismi sviluppatisi sulle piastre esposte all'aria delle gallerie per la ricerca batteriologica qualitativa ve ne erano dei patogeni, ed a questo scopo abbiamo versato nella scatola di Petri dell'acqua sterilizzata, abbiamo agitato con un ago di platino l'acqua, cercando nello stesso tempo di emulsionare tutte le colonie, ed una piccola parte di questa emulsione abbiamo inoculata nella vena giugulare dei conigli.

Tutti gli animali inoculati sono morti d'infezione acuta dovuta a bacilli tifosimili o a *bacterium coli*.

L'ovatta che aveva servito alla determinazione del polviscolo atmosferico è stata utilizzata in tutte le esperienze per la ricerca del bacillo della tubercolosi.

A questo scopo è stata messa in piccola quantità di acqua sterilizzata, vi è stata tenuta qualche tempo e poi, scacciata tutta l'acqua dal piccolo batuffolo con una forte pressione esercitata da una bacchetta di vetro sulle pareti della provetta, si è evaporata tutta l'acqua raccolta su di un vetro porta-oggetto, e si è fatta la colorazione per la ricerca dei bacilli della tubercolosi.

Solamente nell'aria del livello intermedio n. 5 fra Ignazia ed Enidina abbiamo riscontrato il *bacillo della tubercolosi*.

La quantità di pulviscolo atmosferico non è tale da rappresentare un fattore molto dannoso per la salute dei minatori. Abbiamo avuto cura di raccogliere il pulviscolo che vien fuori dalla roccia quando si scavano le mine ed abbiamo potuto vedere che anche quando è molto secco, sospeso nell'aria, tende subito a depositarsi. Quando l'operaio scava la mina dall'alto in basso non va certo soggetto ad inalare molto polviscolo, perchè ha la cura di bagnare il

fondo del foro praticato dallo scalpello, perchè sia più rapido il lavoro di escavazione. Quando bisogna praticare il foro dal basso in alto, è allora che non potendosi introdurre dell'acqua tutto il polviscolo cade poco per volta, e può essere inalato dall'operaio.

Oltre al polviscolo che si stacca dalla roccia, bisogna anche tener conto del polviscolo di carbone prodotto dalle lampade. Alcune volte abbiamo veduto diventare nero il batuffolo di ovatta che serviva alla determinazione del polviscolo atmosferico. Dopo qualche ora che si è stato in galleria, specialmente in alcuni luoghi asciutti, ove lavorano molti operai, con molte lampade, basta soffiarsi il naso per persuadersi della esistenza e della quantità del polviscolo di carbone.

Il dottor Loi, medico condotto nel comune di Guspini, ove dimorano molti operai della miniera di Montevecchio, ci ha riferito che in parecchie delle autopsie fatte ha riscontrato una considerevole antracosi polmonale.

III.

Le Società minerarie in Sardegna sono 20 e posseggono 70 miniere, delle quali 6 di lignite e tutte le altre metalliche.

Il numero dei lavoranti delle miniere sarde nel quinquennio 93-97 era intorno ai 10,000, come risulta dalla seguente tabella:

ANNI	Uomini		Donne		Totale
	Adulti	Sotto i 15 anni	Adulte	Sotto i 15 anni	
1892-93	9 024	598	712	216	10 550
1893-94	8 384	595	632	189	9 800
1894-95	8 158	477	741	145	9 521
1895-96	8 894	523	679	174	10 270
1896-97	9 448	516	832	184	10 980

Oggi in meno di quattro anni il numero è salito a circa 15,000, dei quali circa i $^9/_{10}$ sono sardi.

Nelle tabelle seguenti figura il numero complessivo degli operai delle principali miniere della Sardegna al principio del 1901, distinti per qualità e condizioni di lavoro, per sesso e per età.

Numero dei lavoranti delle principali miniere, distinti per qualità di lavoro, per sesso e per età.

QUALITÀ DI LAVORO	Lavoranti di età non superiore ai 15 anni		Lavoranti di età non inferiore ai 15 anni		Totale
	Uomini	Donne	Uomini	Donne	
Lavoranti all'estrazione dei minerali.	—	—	5 026	—	5 026
Id. alla cernita dei minerali . .	213	55	702	301	1 271
Id. al lavaggio dei minerali . .	28	—	1 164	249	1 441
Id. alla calcinazione dei minerali.	—	—	158	—	158
Id. alla fusione dei minerali . .	—	—	121	—	121
Id. con attribuzioni diverse. . .	10	—	160	—	170
Totali . . .	**251**	**55**	**7 331**	**550**	**8 187**

Numero dei lavoranti delle principali miniere, distinti per condizioni di lavoro, per sesso e per età.

CONDIZIONI DI LAVORO	Lavoranti di età non superiore ai 15 anni		Lavoranti di età non inferiore ai 15 anni		Totale
	Uomini	Donne	Uomini	Donne	
Lavoranti all'aperto	110	52	1 872	261	2 295
Id. in locali variamente riparati.	141	3	1 839	289	2 272
Id. in galleria	—	—	3 620	—	3 620
Totali . . .	**251**	**55**	**7 331**	**550**	**8 187**

Da queste tabelle risulta innanzi tutto che vario è il lavoro nelle miniere a seconda che gli operai sono addetti alla escavazione del minerale (lavoro sotterraneo), ovvero alla cernita del minerale, al lavaggio di esso, alla calcinazione, alla fusione (lavoro all'aperto o in locali variamente riparati).

Vario poi è il lavoro degli operai che sono in galleria, a seconda che sono addetti alla preparazione delle mine, alla escavazione del minerale dopo che hanno esploso le mine, al trasporto dei vagoni carichi di minerale, a varie opere di fabbrica, ecc.

Sopra un totale di 8187 lavoranti ve ne sono 306 di età inferiore ai 15 anni, di cui 162 lavorano all'aperto e 144 lavorano in locali variamente riparati. Per ogni 100 lavoranti ve ne sono 3. 7 di età inferiore ai 15 anni, i fanciulli con una percentuale di 3. 06, le fanciulle con una percentuale di 0. 6.

Le donne lavoranti rappresentano una percentuale di 7. 9, e su 100 donne lavoranti ve ne sono 8 di età inferiore ai 15 anni.

Quanto alle *condizioni di lavoro* possiamo dire che il 28 per cento dei lavoranti (uomini e donne) lavora all'aperto, il 27 per cento in locali variamente riparati, ed il 44 per cento in galleria.

In quasi tutti gli Stati il lavoro delle donne e dei fanciulli è regolato da leggi speciali.

Nel Belgio, dopo la legge del 13 dicembre 1889, non possono lavorare nelle miniere che le donne al disopra dei 21 anni.

Il numero delle donne e dei fanciulli che lavorano nelle miniere della Sardegna è scarso relativamente a quello che troviamo nelle miniere di altre nazioni. Così ad esempio nelle miniere di carbone del Belgio nel 1893, un anno dopo che fu applicata la legge del 13 dicembre 1889, lavoravano ancora 2172 donne, di cui 623 al disopra di 21 anni, 1505 tra i 16 e 21 anni e 44 tra 14 e 16 anni.

Nelle miniere della Germania trovano lavoro 11,651 donne.

Considerevole è anche il numero dei fanciulli che lavorano nelle gallerie o all'aperto nelle miniere di carbon fossile di alcune nazioni europee, come si rileva dalla seguente tabella:

MINIERE DI CARBON FOSSILE	Lavoro sotterraneo			Lavoro all'aperto		
	Uomini	Donne	Totale	Uomini	Donne	Totale
Prussia.	814	—	814	9 398	448	9 846
Austria.	—	—	—	—	—	—
Francia.	4 488	—	4 488	—	—	4 304
Inghilterra	47 100	—	47 100	11 320	480	11 800
Belgio	6 403	44	6 447	2 619	2 353	4 972

Nelle miniere della Sardegna i lavoranti al di sotto dei quindici anni lavorano solamente all'aperto o alla cernita dei minerali o al lavaggio, qualità di lavoro che non è certo da paragonarsi a quello che si fa in galleria.

Dalle interrogazioni da noi fatte a circa trecento lavoranti nelle gallerie della miniera di Montevecchio, ci risultano le seguenti percentuali a secondo della loro età:

Dai 15 ai 20 anni	Dai 20 ai 30 anni	Dai 30 ai 40 anni	Dai 40 ai 50 anni	Dai 50 ai 60 anni	Dai 60 ai 70 anni
0. 42 °/₀	27.8 °/₀	40. 3 °/₀	23. 1 °/₀	7. 7 °/₀	0. 42 °/₀

Quanto al numero degli operai scapoli, ammogliati senza figli. ammogliati con figli e vedovi con figli dalle stesse interrogazioni ci risultano le seguenti percentuali:

Scapoli	Ammogliati senza figli	Ammogliati con figli	Vedovi con figli
20. 2 °/₀	10. 3 °/₀	66. 5 °/₀	0. 8 °/₀

Predomina il numero degli operai con moglie e figli. ed a questo proposito è interessante conoscere il numero degli operai con figli viventi ed il numero degli operai con figli morti.

Operai con figli viventi.

1 figlio	2 figli	3 figli	4 figli	5 figli	6 figli	7 figli	8 figli	11 figli
13.7 °/₀	12.8 °/₀	12.8 °/₀	11.1 °/₀	7.7 °/₀	6 °/₀	1.7 °/₀	0.4 °/₀	0.4 °/₀

Operai con figli morti.

1 figlio morto	2 figli morti	3 figli morti	4 figli morti	5 figli morti	6 figli morti	8 figli morti
14.1 °/₀	12 °/₀	7.2 °/₀	2.1 °/₀	1.7 °/₀	0.8 °/₀	0.8 °/₀

Da questi dati risulta che è piuttosto elevata la *mortalità dei figli dei minatori* e che muore più della metà della prole perchè il rapporto tra i figli vivi ed i figli morti appartenenti agli stessi genitori è come 100 : 63.8. Questo fatto in parte si spiega con le condizioni economiche poco buone in cui si trova la maggior parte dei lavoranti.

Le *mercedi nelle miniere* sono proporzionali alla capacità dell'operaio ed alla importanza e difficoltà del lavoro; le minori vanno ai lavoranti alla cernita ed al lavaggio, mentre gli altri operai, tutti adulti, godono compensi alquanto o molto più elevati.

Le tabelle seguenti, meglio che qualsiasi esposizione, danno un concetto esatto delle mercedi percepite dai lavoranti.

Lavoranti nella miniera di Montevecchio nel gennaio 1901.

LAVORANTI IMPIEGATI — QUALITÀ O CATEGORIA	Numero				Totale	Salario quotidiano	
	Uomini		Donne				
	Adulti	Dai 12 ai 15 anni	Adulte	Dai 12 ai 15 anni		Massimo	Minimo
						L. C.	L. C.
Interno.							
Caporali	11	—	—	—	11	6. »	4. »
Imboscatori	28	—	—	—	28	3.50	2.60
Minatori	486	—	—	—	436	5. »	2.50
Manovali e aiuto imboscatori	394	—	—	—	394	2.50	1 75
Esterno.							
Caporali, sorveglianti e guardie	40	—	—	—	40	4.50	2.60
Manovali	282	—	—	—	282	2. »	1.50
Lavoratrici	—	—	53	—	53	1. »	0.70
Cernitori e cernitrici	57	68	35	54	214	0.75	0.40
Aggiustatori e conduttori	36	—	—	—	36	6. »	2.50
Ingrassatori e fuochisti	26	—	—	—	26	2.50	1.50
Fabbri	19	—	—	—	19	3.50	2. »
Falegnami, carrai e bottai	15	—	—	—	15	3.50	2.50
Tolai	1	—	—	—	1	3.70	2.50
Sellai	1	—	—	—	1	4. »	2. »
Apprendisti e tiramantici	46	7	—	—	53	1. »	0.75
Muratori	23	—	—	—	23	4. »	3. »
Carrozzai, stallieri e carrettieri	17	—	—	—	17	4. »	1.75
Facchini di magazzino	1	—	—	—	1	3.30	—
Totale	**1483**	**75**	**88**	**54**	**1700**		

Miniere di Monteponi.

RETRIBUZIONI	Massime	Medie	Minime
	L. C.	L. C.	L. C.
Adulti	7. »	2.50	1.80
Fanciulli	1.80	1.20	0.60

Miniera di Giovanni Lungo.

LAVORANTI IMPIEGATI	Mercede giornaliera		*Osservazioni*
	Da Lire	A Lire	
Esterno.			
Caporali	—	3. »	Mercede media.
Artieri	3. »	4. »	
Manovali	1.70	2.20	
Crivellanti	1.35	1.50	
Donne	0.90	1.20	
Interno.			
Caporali	3. »	5. »	
Armatori	2.50	3. »	
Minatori	—	2.20	Mercede media.
Vagonisti	1.80	2.10	
Manovali	1 50	1.10	

La *durata del lavoro* nelle miniere sarde è di 8 ore continue per l'operaio in galleria, per l'operaio all'esterno è di 9 ore in estate, con un intervallo di 2 $^1/_2$ a 3 ore, e di 10 ore in inverno con intervallo di 1 $^1/_2$ a 2 ore. Gli intervalli si danno nel meriggio.

Nelle miniere della Sardegna non vi sono leggi speciali che regolano le ore del lavoro in rapporto alla qualità di questo.

Invece, ad esempio, in Germania è vietato di lavorare più di 6 ore in quei luoghi, ove la temperatura è superiore ai 29 e 30° C.

In Austria la legge del 21 giugno 1884 limita a 10 ore il lavoro nelle miniere. Nell'Inghilterra le donne non devono lavorare più di 10 ore al giorno con mezz'ora di riposo ogni 5 ore. Nel Belgio secondo la legge del 15 marzo 1893, le donne tra 16 e 21 anni non devono lavorare all'aperto più di 10 ore e mezza al giorno con un'ora e mezza di riposo.

Leggi speciali regolano il lavoro dei fanciulli in Germania, Francia ed Inghilterra ed è ad augurarsi che quanto prima sia ritoccata consimile legge in Italia. In Germania i fanciulli sono ammessi al lavoro nella età di 13 anni e lavorano 8 ore con un'ora d'intervallo. Il loro lavoro non deve cominciare prima delle 5 del mattino e non deve terminare al di là delle 11 ore di sera. Tra un lavoro e l'altro vi devono essere almeno 12 ore di riposo.

In Francia i fanciulli sono ammessi al lavoro nella età di 13 anni. Nei lavori sotterranei è permesso il lavoro ai fanciulli al disotto dei 16 anni solamente per 8 ore con un'ora d'intervallo.

Nel Belgio i fanciulli sono ammessi al lavoro nella età di 12 anni e nei lavori sotterranei non possono lavorare più di 10 ore e mezza.

Nell'Inghilterra i fanciulli al disotto di 13 anni possono lavorare all'aperto solamente 6 ore al giorno. Nei lavori sotterranei i fanciulli tra 12 e 16 anni possono lavorare 10 ore al giorno. Il lavoro di notte è vietato.

Certo il lavoro dei fanciulli nelle miniere dovrebbe essere di molto limitato, perchè pericoloso e dannoso ad un organismo che è in via di sviluppo. Giusto quindi quanto fu stabilito nell'ultima conferenza internazionale per la difesa del lavoro, che cioè nei lavori sotterranei non devono essere ammessi fanciulli di età inferiore ai 14 anni nei paesi del nord e di età inferiore ai 12 anni nei paesi del sud.

Dalle interrogazioni da noi fatte agli operai della miniera di Montevecchio, abbiamo stabilito il numero degli anni da che ciascun lavorante faceva il lavoro nelle gallerie, ed i risultati sono esposti nella seguente tabella:

Da 1 a 10 anni	Da 10 a 20 anni	Da 20 a 30 anni	Da 30 a 40 anni	Da 40 a 50 anni
35 %	42.5 %	18.9 %	3.4 %	0.5 %

Le *attività fisiche dell'operaio* nelle miniere sarde, quale che sia il suo lavoro, si esercitano bene, e spesso anzi più che non richiedasi dai bisogni fisiologici.

Un eccesso di questo esercizio infatti è a lamentare per quegli operai, e sono molti, che alla fine del lavoro giornaliero ritornano alle loro famiglie, in comuni distanti dalle miniere, esaurendo così tante energie che altrimenti andrebbero a benefizio dell'operaio e della industria per la quale lavora.

L'operaio abita presso la miniera se questa è molto distante da ogni centro di popolazione, in caso diverso, se egli ha famiglia in un comune vicino, ritorna in generale presso i suoi alla fine del lavoro quotidiano.

Infatti dalle interrogazioni da noi fatte agli operai della miniera di Montevecchio, che in maggioranza dopo il lavoro ritornano ai comuni di Arbus e di Guspini, risulta che il 3 per cento dei lavoranti fa un'ora e un quarto al giorno di cammino, che anche il 3 per cento fa due ore al giorno di cammino, che il 31. 3 per cento fa due ore e mezza al giorno di cammino, che il 36. 9 per cento ne fa 3 ore al giorno, che il 5. 5 per cento fa 4 ore al giorno di cammino. Solamente il 4. 2 per cento degli operai dimorano in case presso la miniera.

Le *ore di riposo* degli operai non sono certo proporzionate alle ore di lavoro, perchè dalla nostra inchiesta, fatta sugli operai della miniera di Montevecchio, risulta che il 27 per cento dei lavoranti dormono sole 5 ore, il 39 per cento sole 6 ore, il 14. 1 per cento sole 7 ore. Questa sproporzione non è dovuta a difetto di tempo. Infatti tolte le ore di lavoro e di occupazioni per i comuni bisogni della vita ed anco le altre spese pel ritorno giornaliero presso la famiglia, resta all'operaio, nelle 24 ore, tempo sufficiente per un riposo ristoratore, purchè egli a ciò voglia destinarlo.

Il lavoro dell'operaio nelle miniere di Sardegna non è pericoloso, come nelle tante e tante miniere di carbone e in quelle di zolfo; nel decennio 1888-1898 la media di *morti per infortuni* è stata annualmente di 0. 6 per mille, cifra che è inferiore alle analoghe di qualsiasi gruppo di miniere della terra. Nel 1899 la media è scesa ancora a 0. 5 per mille.

Per gli infortuni provvede la legge del 1898, ma non è men vero che anche prima di essa le società soccorrevano largamente le vittime o chi era orbato del padre o del marito.

Le statistiche degli infortuni avvenuti nelle miniere della Germania danno il 2 per mille e in quelle di America il 5 per mille. La causa più comune d'infortunio è dovuta alla caduta di frane.

L'*alimentazione* principale degli operai delle miniere sarde è

costituita di pane, pasta, legumi o verdure, uova, latticini, ed in qualche miniera, anco pesce.

La minestra e la carne si usano una, due o più volte alla settimana, a seconda lo stato economico dell'operaio, il numero dei componenti la sua famiglia ed il tempo di cui può disporre per cucinare, la possibilità di trovare preparati i cibi in famiglia, o in cantina.

Dalle nostre interrogazioni fatte agli operai della miniera di Montevecchio risulta che solamente il 3 per cento dei lavoranti mangia la carne tutti i giorni, il 6,4 per cento 3 volte la settimana, l'11,1 per cento 2 volte la settimana, il 49,3 per cento una volta la settimana, il 0,8 per cento 3 volte al mese, il 20,6 per cento una volta al mese.

Dalle stesse interrogazioni risulta che mangiano la minestra tutti i giorni il 14,5 per cento degli operai, 3 volte per settimana il 19,7 per cento, 2 volte per settimana il 30 per cento, una volta per settimana il 21,6 per cento.

Non manca, almeno in uno dei pasti, il vino, per lo più di qualità discreta ed in quantità moderata.

Infatti dalle nostre interrogazioni risulta che il 13,7 per cento degli operai beve 1 litro di vino al giorno, il 30,9 per cento mezzo litro al giorno, il 4,7 per cento un quarto di litro al giorno, il 12 per cento un litro per settimana.

L'uso dei liquori è in generale limitatissimo, perchè l'operaio sardo è piuttosto sobrio, e perchè ubbriaconi ed alcoolisti sono esclusi.

Infatti dalla nostra inchiesta risulta che il 72,9 per cento degli operai non beve mai acquavite e che quelli che ne bevono, ne bevono ben poca.

La provvista d'acqua nel maggior numero delle miniere è abbondante e di buona qualità, ed alcune Società hanno acquedotti igienicamente costruiti.

Tutti i generi alimentari sono soggetti alla vigilanza igienica di speciali commissioni e dei medici locali, e negozianti e cantinieri vi sottostanno, perchè le Società in compenso assicurano loro sulle paghe degli operai il pagamento degli acquisti che costoro fanno.

È trascurato molto il *vestiario*. Dalle nostre interrogazioni fatte ai minatori della miniera di Montevecchio risulta che solamente il 7,2 per cento degli operai portano d'inverno maglie di lana, il 41,6 per cento portano maglia di cotone ed il 51,07 per cento portano la sola camicia.

La trascuranza di una razionale difesa dalle influenze atmosferiche e da quelle, specialmente micidiali, che agiscono alla uscita dalle gallerie, può ritenersi in parte dipendente dalla esiguità delle mercedi, ed in parte si deve a difetto di educazione, a troppa fidanza nella bontà del clima temperato ed in altri casi anco ad una relativa difficoltà a procurarsi il necessario a prezzi ordinari e convenienti, o per difetto di negozi, o perchè fra questi non si stabilisce concorrenza.

Nelle miniere di Monteponi, presso le quali questo non si verifica per i rapporti di vicinanza esistenti con la città di Iglesias, e per l'esistenza della prospera cooperativa di consumo, l'operaio veste meglio ed anche con proprietà.

IV.

Sulle *speciali influenze che i vari lavori delle miniere in Sardegna esercitano sulla salute degli operai*, e sulle *condizioni sanitarie generali delle popolazioni delle stesse miniere* si hanno le seguenti notizie:

Nel 1899 su 8187 operai si sono avuti 3,34 casi d'infortunio per cento, contando come tali anco lesioni traumatiche lievi e di nessuna conseguenza, mentre la percentuale d'infortuni gravi è stata di 0,5 ‰.

Fra gli stessi 8187 operai in questi ultimi anni si sono constatati 13 casi di coliche intestinali ed un caso di disturbi cerebro-spinali attribuiti ad avvelenamento saturnino, cioè una percentuale di 0,17 in un biennio e più.

Bisogna concludere che dai materiali escavati o trattati nelle miniere della Sardegna non si hanno che eccezionalmente sintomi manifesti di avvelenamento negli operai, contrariamente a quello che a priori si può supporre, trattandosi di materiali nei quali in prevalenza è rappresentato il piombo.

Nel quinquennio 1893-97 le Società di Monteponi, Vieille Montagne, Malfidano-Buggerru, complessivamente ricoverarono in ospedale ogni anno, in media, 1730 loro operai.

Nel 1899, quando il numero dei lavoranti era ancora, e di molto, aumentato, i loro operai ricoverati in ospedale furono invece 1304 (vedi tabelle seguenti):

Ammalati ricevuti nell'Ospedale di Buggerru nel 1899.

	Sezione Medicina				Sezione Chirurgia			
	Di età sino a 15 anni	Da 15 anni a 50	Da 50 anni e più	Morti	Di età sino a 15 anni	Da 15 anni a 50	Da 50 anni e più	Morti
Uomini	11	343	18	18	6	160	7	—
Donne	1	37	4	1	1	12	1	—
Totale	**12**	**380**	**22**	**19**	**7**	**172**	**8**	—

Riassunto.

MALATTIE	Uomini	Donne	Totali	
Ammalati di medicina	372	42	414	601
Ammalati di chirurgia	173	14	187	
Morti	18	1	19	

Operai delle miniere: uomini 2,733 — donne 368 — fanciulli 112 — fanciulle 52.

Società Pertusola, ramo miniere, S. Giovanni. Anno 1899.

MALATTIE	Superiore ai 15 anni		Inferiore ai 15 anni		Totale degli ammalati	Morti
	Uomini	Donne	Uomini	Donne		
Sezione medica	127	39	—	—	339	12
Sezione chirurgica	115	6	—	—		
Sezione oftalmica	87	15	—	—		

Operai della miniera: uomini 479 — donne 46 — nessun fanciullo.

Infermeria della Società Vieille Montagne nel 1899.

MALATTIE	Lavoranti di età non superiore ai 15 anni		Lavoranti di età non inferiore ai 15 anni		Totale degli ammalati	Morti
	Uomini	Donne	Uomini	Donne		
Sezione medica	12	3	89	21	249	5
Sezione chirurgica.	8	2	55	4		
Sezione oftalmica	6	3	34	12		

Operai delle miniere: uomini 500 — donne 29 — fanciulli 12 — fanciulle 3.

Ciò dimostra che le condizioni sanitarie nelle miniere dal 1897 al 1899 migliorarono moltissimo.

Nel 1899 negli ospedali della Società di Malfidano, a Buggerru, della Vieille Montagne e della Pertusola furono in tutto ricoverati in medicina 28 *fanciulli d'ambo i sessi* su 179, il *14. 52* %, cioè 23 *fanciulli* su 124, il *19. 33* %, e 3 *fanciulle* su 55, il *5. 45* %: 577 *adulti* su 3732, il *15. 58* %; 101 *adulte* su 443, il *22. 8* %, ed in chirurgia 17 *fanciulli d'ambo i sessi*, il *9. 50* % e di essi 14 *fanciulli*, l'*11. 29* % e 3 fanciulle, il *5. 45* %: 337 *adulti*, il *9. 1* %; 23 *adulte*, il *5. 19* %.

Le percentuali succennate dimostrano che la morbosità più elevata per affezioni mediche si ha nelle adulte. Questo fatto pare stia in rapporto alla esiguità delle mercedi della donna, al suo più elevato sentimento di abnegazione per la famiglia con la quale divide i suoi meschini guadagni, alle occupazioni o preoccupazioni maggiori a cui va incontro per i bisogni dei figli e della casa, senza tener conto delle speciali influenze che possa il lavoro esercitare sul suo organismo, specialmente nei periodi di gestazione e d'allattamento.

Le percentuali di morbosità per le affezioni mediche e chirurgiche sono pei fanciulli molto più elevate che per le fanciulle; si tratta per ambo i sessi d'individui fra i 12 e i 15 anni; ma si comprende che la vita più libera, i vizi maggiori e la maggiore temerarietà dei fanciulli debbano determinare tali differenze.

Le percentuali di morbosità spiccatamente più basse si hanno per le fanciulle.

Se l'umidità e le intemperie, l'azione del sole e del pulviscolo atmosferico nei lavori di cernita, se l'umidità nei lavori di lavaggio dei minerali esercitassero una più o meno grave influenza sui lavoranti, prime a risentirne gli effetti sarebbero le fanciulle, organismi più delicati e meno resistenti, le quali a tali agenti sono ugualmente esposte che le adulte ed i fanciulli; ma poichè ciò non si verifica, non si comprenderebbe la loro più limitata morbosità.

Ora questo fatto dipende invece dalle condizioni di vita più equilibrate e più tranquille della fanciulla tra i 12 e 15 anni.

In quelle miniere nelle quali la vita dell'operaio fuori del posto di lavoro si svolge in condizioni favorevoli d'ambiente, d'abitazione, di alimentazione e d'igiene della persona, le percentuali di morbosità si ritiene debbano essere meno elevate di quelle sopra accennate.

Le percentuali qui riportate si riferiscono infatti a 4324 operaí di cui più che i tre quarti, 3255, sono delle miniere di Malfidano, presso le quali la vita dell'operaio si svolge in condizioni eccezionalmente anormali, perchè su costoro appunto agiscono cause di morbosità estranee all'ambiente ed ai lavori di miniera.

La quasi totalità di essi è stabile a Buggerru, grossa frazione del comune di Fluminimaggiore, la quale con essi ha nna popolazione di 7000 abitanti.

Ivi le condizioni igieniche dell'abitato, delle abitazióni, della provvista d'acqua, dell'ambiente materiale e morale in genere, sono pessime; ivi, a differenza di tutti gli altri centri minerari dell'Isola e più che in qualsiasi comune della provincia di Cagliari, dominano, o sono endemiche, motle malattie infettive, come la tubercolosi, il tifo, la febbricola, la dissenteria, la difterite, le febbri puerperali, le meningiti cerebro-spinali, la pustola maligna; ivi si manifesta anche l'alcoolismo.

Ivi la percentuale elevatissima di anemia nelle giovani, che si verifica nel 50 %, è accompagnata da disturbi degli organi sessuali, e, in seguito, da gestazioni faticose e conseguenti aborti e parti prematuri in gran numero. Elevatissima è anche la natimortalità.

Tutto ciò non si verifica affatto nelle popolazioni minerarie dove in generale la vita si svolge in favorevoli condizioni anco più che non nelle popolazioni dei comuni vicini, o si verifica in proporzioni assai più ridotte.

Negli ospedali della Società Vieille Montagne e Pertusola furono complessivamente curati per affezioni oculari 9 *fanciulli d'ambo i*

sessi sopra 15, il *60* %; 71 *adulti* sopra 979, il *7.02* %; 37 *adulte* sopra 75, il *37* %.

Le affezioni oculari o più esattamente le congiuntiviti tracomatose sono diffusissime, endemiche nell'Isola, e non sono quindi a ritenersi specifiche delle popolazioni delle miniere sarde.

L'umidità e gli altri agenti esterni ai quali trovasi esposto l'operaio destinato alla cernita dei minerali ed alle laverie possono certamente contribuire a predisporre a tali affezioni.

La tubercolosi e l'alcoolismo nei lavoranti delle miniere della Sardegna, eccetto che a Buggerru, o non esistono o si manifestano con poca frequenza; e sempre molto meno che nelle popolazioni dei comuni finitimi.

In alcune miniere sarde la malaria dà alla morbosità un contributo molto basso, in altre ancora alquanto elevato, ma sempre molto meno che nelle popolazioni dei comuni vicini, poichè nelle zone minerarie, pei lavori eseguiti, le acque del sottosuolo si sono abbassate e si è sistemato il regime di quelle superficiali.

Si deve in buona parte a questo risanamento la progressiva diminuzione della morbosità nei centri minerari.

Nella tabella seguente figurano le malattie curate nel 1899 nello ospedale delle miniere di Montevecchio:

MALATTIE	Sesso	Numero	Esito
Paralisi generale	Maschio	1	Guarito
Febbri intermittenti	Id.	27	Id.
Congiuntiviti	Id.	2	Id.
Affezioni cardiache	Id.	4	Id.
Lesioni viscerali	Id.	14	Id.
Polmoniti	Id.	23	Id.
Affezioni intestinali	Id.	8	Id.
Calcolo salivare	Id.	1	Id.
Affezioni reumatiche	Id.	7	Id.
Scottature	Id.	1	Id.
Adeniti	Id.	3	Id.
Influenza	Id.	17	Morti 2
Malattie della pelle	Id.	3	Guariti

Operai delle miniere: uomini 1,621 — Donne 114 — fanciulli 75.

Prescindendo dalle febbri malariche, la cifra più elevata si trova segnata per le polmoniti, in generale verificatesi probabilmente su operai adulti destinati a lavori sotterranei.

Dalle interrogazioni da noi rivolte agli operai della miniera di Montevecchio per conoscere le malattie che avevano sofferto negli anni precedenti, risultano le seguenti percentuali per ordine di frequenza:

Malaria	70.3 %
Reumatismo articolare . . .	5.1 »
Polmonite	2.5 »
Pleurite	2.5 »
Influenza.	2.1 »
Saturnismo	1.3 »
Catarro gastrico	1.2 »
Enterite	0.4 »
Dissenteria	0.4 »
Nefrite.	0.4 »
Bronchite.	0.4 »
Scrofola	0.4 »

Da questa tabella appare chiaro che *la malaria e le malattie così dette da raffreddamento sono le più frequenti fra i minatori.*

Abbiamo avuto la cura di domandare in quali mesi i minatori avevano sofferto la malaria e le risposte avute sono segnate nella seguente tabella:

Dicembre	Febbraio	Aprile	Maggio	Giugno	Luglio	Agosto	Settembre	Ottobre
0.4 %	0.4 %	1.2 %	3.8 %	10.7 %	17.1 %	27.4 %	7.2 %	1.7 %

I mesi di giugno, luglio ed agosto sono quelli in cui più facilmente i minatori contraggono la malaria.

Qui è da notare che la maggior parte dei lavoranti interrogati appartengono ai comuni di Àrbus e Guspini nei quali domina molto la malaria. Nella parte bassa della miniera di Montevecchio, da quanto abbiamo potuto sapere, domina anche la malaria.

Al momento dell'interrogatorio il 17.5 % degli operai presentava catarro bronchiale (assenza di bacilli della tubercolosi negli espettorati): il 3 % presentava tubercolosi polmonale (presenza di bacilli della tubercolosi negli espettorati): il 0.8 % presentava congiuntivite tracomatosa.

Il dott. Loi, medico condotto di Guspini, molto gentilmente, e noi gliene rendiamo grazie, ci ha dato alcuni dati statistici sulla mortalità per alcune malattie osservate nei lavoranti della miniera di Montevecchio che dimoravano in detto comune.

La mortalità per tubercolosi e polmoniti nel decennio 1889-98 è la seguente:

ANNI	Mortalità per tubercolosi	Mortalità per polmonite
1889	6.1 %	2.5 %
1890	4.7 %	1.6 %
1891	2.7 %	2 %
1892	5.7 %	0.7 %
1893	3.3 %	0.8 %
1894	3.9 %	0.9 %
1895	5.5 %	1.8 %
1896	2.5 %	1.3 %
1897	4.5 %	1.9 %
1898	8.6 %	0.8 %

I risultati ottenuti dalle percentuali di mortalità per altre malattie sono segnati qui appresso:

ANNI	Mortalità per						
	Pleurite	Enterite	Tifo	Peritonite tubercolare	Scrofola	Perniciosa	Nefrite
1889.	0 5 %	0.5 %	—	—	—	—	—
1890.	0.5 %	—	—	—	—	—	—
1891.	—	0.6 %	—	—	—	0.6 %	—
1892.	—	—	0.7 %	—	—	—	—
1894.	—	—	—	0.4 %	0.4 %	—	—
1896.	0.6 %	—	—	—	—	—	—
1898.	—	—	—	—	—	—	0.8 %

Dopo quanto si è fatto per migliorare le condizioni di vita dei minatori si può dire che la morbosità da essi presentata per rispetto a quella che si osserva negli altri operai è scemata di molto.

Secondo l'Eulenburg di mille minatori ne muoiono:

20.5 in età di 45-55 anni;
43.6 in età di 55-65 anni;
100.3 in età di 65-75 anni.

Di 1,000 minatori appartenenti alle miniere della Prussia morirono secondo Schlochow:

Al disotto di 25 anni	Dai 25 ai 35 anni	Dai 35 ai 45 anni	Dai 45 ai 55 anni	Dai 55 ai 65 anni
8.09	9.20	13.52	23.60	41.75

Fino ai 40 anni la percentuale di mortalità dei minatori è presso a poco uguale a quella che si osserva in tutta la popolazione, dopo i 50 anni sale notevolmente.

In un rapporto del *Mining Journal* del 1858 si legge quanto segue: « a 20 anni i minatori di carbone fossile danno una morbosità di 46 %; a 30 anni del 70 %, a 40 anni del 78 %, a 50 anni del 76 % e a 60 del 53 %. Alla età di 15-25 anni $^1/_3$ dei casi di morte avviene per malattie degli organi della respirazione; $^1/_3$ per morte violenta. È un fatto innegabile che la vita del minatore in media dura solamente 27.7 anni, mentre quella del contadino 42.3 ».

Ora non si può neanche stabilire il confronto fra la morbosità che presentano gli operai delle miniere di carbon fossile e quella che abbiamo notata negli operai delle miniere di Sardegna, ammettendo anche il miglioramento nelle condizioni di vita dei minatori avvenuto dal 1858 finora.

Nel seguente quadro riportiamo il numero delle morti secondo l'età dei minatori di Guspini nel decennio 1889-98.

Da 20 a 30 anni	Da 30 a 40 anni	Da 40 a 45 anni	Da 45 a 50 anni	Da 50 a 60 anni	Oltre i 60 anni
12	25	23	26	14	—

Questi dati sono abbastanza concordi con quelli innanzi riferiti.

Oltre le malattie dell'apparecchio respiratorio, il reumatismo articolare e quei pochi casi di saturnismo possiamo dire che non vi è una malattia propria dei minatori.

Certo le cause principali delle malattie delle vie respiratorie devono essere ricercate nell'aria che circonda il minatore nelle gallerie. Come innanzi abbiamo veduto, quest'aria non è molto ricca di ossigeno ed è invece ricca di acido carbonico. L'acido carbonico esercita uno stimolo sulla mucosa respiratoria e la predispone allo attecchimento dei germi patogeni.

Anche se l'organismo possiede la capacità di adattarsi a queste condizioni dannose, pure l'azione persistente dell'aria inspirata privata in parte del gas necessario alla vita deve essere causa di malattia per la maggior parte degli individui e più specialmente per i loro organi respiratori.

Anche il polviscolo atmosferico coadiuva l'azione dannosa dell'aria. Il polviscolo che si solleva dalla roccia nello scavare le mine ha azione dannosa, oltre che sulla mucosa respiratoria, anche sulla cute. Possiamo così spiegarci la frequenza delle malattie della pelle nei minatori.

Inoltre il vapor d'acqua, che satura quasi completamente l'aria, impedisce, specialmente nelle gallerie, ove la temperatura è elevata, la eliminazione dell'acqua dall'organismo ed altri organi devono supplire alla mancata o deficiente eliminazione di acqua dalla superficie cutanea.

Il polviscolo di carbone e quello calcareo insieme col sudore formano sulla superficie cutanea una specie di unguento che ostruisce i pori della cute.

I minatori vanno poi soggetti a bagnarsi, perchè spesso gocciola acqua fredda dalle volte delle gallerie. Ora, se come sovente accade, sono riscaldati, vanno facilmente soggetti a sofferenze reumatiche.

Spesso i poveri minatori sono costretti a stare per qualche tempo coi piedi nell'acqua ed anche questa è una causa di raffreddamento.

Inoltre bisogna considerare che in una stessa galleria la temperatura varia moltissimo e che vi è una grande differenza di temperatura fra gli avanzamenti e le gallerie in vicinanza del pozzo.

Siamo stati parecchio tempo a contatto dei minatori ed abbiamo veduto che predomina il carattere serio e di poche parole. Questo senza dubbio è dovuto alla lunga permanenza all'oscuro ed alla importanza del lavoro da compiere, che impedisce che i minatori, anche quando lavorano in più nello stesso luogo, possano parlare

scambievolmente. Per queste ragioni principalmente crediamo che essi sieno così cupi e taciturni.

Le buone condizioni di vita al di fuori della miniera, vale a dire un proporzionato riposo, una sufficiente alimentazione ed una abitazione che soddisfi tutte le esigenze della igiene, possono compensare in parte il faticoso lavoro che l'operaio compie nelle miniere.

Molte volte ai danni prodotti dal lavoro si aggiungono quelli provenienti da una alimentazione insufficiente e da una abitazione malsana.

L'alimentazione, come innanzi abbiamo veduto, varia a seconda delle mercedi. Ora i minatori che percepiscono una piccola paga, non si possono certo nutrire a sufficienza, specialmente quando hanno moglie e numerosa prole.

L'alimentazione di solo pane, patate, legumi ed erbaggi non è punto sufficiente, quando si esegue, come nel caso dei minatori, un gran lavoro muscolare.

I minatori, abituati a vivere per parecchie ore nell'aria delle gallerie calda ed umida, risentono molto del freddo e delle correnti, quando sono all'aperto e però, nelle case, amano di stare con le porte e con le finestre chiuse. Alcuni operai ci hanno detto che nei mesi d'inverno, anche senza lavorare, preferirebbero stare nelle gallerie anzi che nelle loro case.

Tutti gli operai che a questi danni sono esposti nel periodo dello sviluppo, forniscono il più grande contingente alle malattie ed alla degenerazione morale.

Se il minatore sardo non risente molto dei danni cagionati dalla vita in miniera, è perchè dopo il lavoro di otto ore in galleria cammina per alcune ore per ritornare alla propria casa. I polmoni allora si distendono e l'ossigeno che vi penetra in considerevole quantità, riattiva i corpuscoli rossi.

Mentre vi sono alcune malattie degli operai di miniera in diretta dipendenza con le condizioni loro di vita, ve ne sono altre affatto indipendenti. La tubercolosi, ad esempio, è considerata come una malattia poco frequente fra i minatori. Questa opinione è specialmente diffusa nel Belgio e nella Francia, ove si ritengono quasi come immuni gli operai delle miniere di carbonfossile. Così il Seltmann in 1200 minatori osservò solamente sei casi di tubercolosi, vale a dire una percentuale di 0. 05. Il Fabre su 1500 operai ebbe ad osservare nel periodo di sei anni solamente tre casi di tubercolosi. Il Moll nell'alta Silesia osservò una percentuele di 0.9. L'Hirt solamente 1. 3 per cento.

Per spiegare la scarsa frequenza della tubercolosi fra i mina-

tori il Gallez (1) ha pensato all'alcoolismo, il Böens invece ha creduto che l'aria caldo-umida della miniera sia contraria allo sviluppo della tubercolosi. Il Vernois attribuisce invece al carbone proprietà antitubercolari.

Le polmoniti e le pleuriti invece sono piuttosto frequenti nei minatori, perchè molto facilmente si bagnano gli abiti, perchè facilmente si raffreddano e perchè il polviscolo abbondante che inspirano, rende la mucosa respiratoria meno resistente allo attecchimento dei germi patogeni.

Anche il reumatismo articolare e muscolare è dovuto al raffreddamento, cui spesso i minatori vanno soggetti. Il Moll riferisce che su 1000 minatori nell'alta Silesia 29 erano ammalati di reumatismo (1862-1867).

Quasi tutti gli operai che lavorano nelle gallerie, hanno il volto pallido, il così detto aspetto anemico. Ora mentre il Kuborn considera questa anemia come la malattia più frequente dei minatori e fra 470 ammalati enumera 74 casi di anemia, molto giustamente osserva Schönfeld che questa anemia dei minatori non esiste come malattia a sè. Questa anemia o è un sintoma di altre malattie o è conseguenza del genere di vita.

Si può dire in poche parole che nella vera anemia esistono pochi globuli rossi per apportare una sufficiente quantità di ossigeno ai tessuti, mentre nei minatori è poco l'ossigeno che i corpuscoli rossi possono appropriarsi.

Quindi nei minatori l'anemia è conseguenza dell'avvelenamento cronico per acido carbonico. Come abbiamo veduto innanzi nelle miniere della Sardegna *sono abbastanza rare le intossicazioni da piombo.* Siccome tale avvelenamento è dovuto alla polvere di piombo che si deposita sugli abiti, sulla cute, al disotto delle unghie, è bene suggerire alcune norme agli operai per impedire che il piombo mescolato agli alimenti produca dei danni.

V.

Nelle miniere della Sardegna è trascurata in massima parte l'*igiene e pulizia della persona*, perchè i locali destinati ai bagni mancano di quelle elementari comodità ed attrattive che costituiscono il mezzo migliore per educare alla loro frequenza.

---

(1) Citato da FÜLLER. *Mortalität, Invalidität und Morbidität der Bergleute.* Jena, 1895.

Ora sapendo che il lavoro nelle miniere influisce in alto grado sulla funzionalità della cute per i minatori è necessario mantenere sempre pulita la cute. Per questa ragione i direttori delle miniere dovrebbero curare lo impianto dei bagni a doccia. Anche nelle miniere dell'Inghilterra e della Francia manca lo impianto di bagni. Invece nelle miniere di Dortmund, secondo un rapporto di Franke del 1893 il 95.7 % dei minatori avevano la opportunità di prendere il bagno.

Quanto alle *abitazioni* sono gratuitamente alloggiati in miniera tutti coloro che non hanno famiglia, e per loro le società dispongono di baracche e di case in solida muratura. A secondo la classe



Fig. III.

ed il grado loro sono riuniti a 2 a 5 e più in uno stesso ambiente proporzionatamente capace, ed igienicamente costruito e disposto.

Qualche Società non dà questi alloggi, mentre alcune invece concedono case o gratuitamente o a condizioni vantaggiosissime, anco alle famiglie degli operai.

La Società di Montevecchio possiede alloggi comodi e decenti per abitazione degli operai e delle operaie senza famiglia, e li concede gratuitamente. Lo stesso può dirsi di alcune altre società minerarie. Nella annessa figura vi è una delle case operaie di Montevecchio.

Gli alloggi delle donne sono separati da quelli degli uomini e sottoposti a speciale sorveglianza.

Il migliore esempio di case operaie è nelle miniere di Nebida. Quivi gli operai celibi sono riuniti in cameroni ampi, aereati e puliti, appartenenti alla società e ceduti gratuitamente. Gli operai con moglie e famiglia prendono in affitto dalla Società, o da privati, piccole case, alle quali per lo più è annesso un pezzo di terreno a coltivare. Ma di ordinario questi operai qualche tempo dopo il loro arrivo si costruiscono una casa con l'aiuto della Società che loro fornisce a credito ed al prezzo di costo i materiali necessari, cioè legnami, tegole, calce, ecc., ritenendone poi a piccole rate l'ammontare.

Per modo che, oltre alle molte costruzioni fatte dalla Socièta, erano state nel triennio 95–97 erette dagli operai più di cento case.

Presso qualche miniera che non dà alloggi per famiglie, alcuni operai, volendo convivere con queste o riceverle a brevi intervalli, hanno costruito misere capanne la cui esistenza è un'onta alla civiltà.

Per l'operaio che lavora nelle miniere è necessaria una abitazione migliore che non per gli altri operai, per la ragione che il minatore passa buona parte del tempo all'oscuro respirando aria poco buona.

Moltissimo si è fatto all'estero per le abitazioni dei minatori. In Francia secondo la relazione dell'esposizione generale di Parigi del 1889 troviamo quanto segue in rapporto alle case operaie delle miniere: « Le miniere di Courriérs nel 1888 avevano alloggiate le famiglie dei minatori in 1126 case ordinate in gruppi di 8–26. A ciascuna casa è annesso un giardino. Abitavano in queste case 5385 operai. Le miniere di Béthume fornivano a 3359 operai 1500 case con giardino a 36–72 franchi per anno. Le miniere di Bruay possedevano 1100 case operaie per 3520 minatori. Case operaie posseggono anche le miniere di Noeux e Vicaigne; quelle di Aniche e Douchy ».

Da questi dati appare chiaro che in Francia con grande sacrifizio di denaro e con grande interesse da parte delle amministrazioni si cerca dare alloggio ai minatori in abitazioni sane e decenti, da non potersi paragonare con le abitazioni degli operai in città.

Nel Belgio trovandosi le miniere lontane dai centri abitati si sono costruite case pei minatori in vicinanza delle miniere e sono date loro in fitto a prezzi molto bassi.

Il D'Audrimont, direttore della miniera Hasard di carbon fossile presso Micheroux, ha fatto costruire gruppi di 4 case di cui ciascuna è abitata da un operaio e sua famiglia. A ciascuna casa è annesso un piccolo giardino e le singole case hanno ingresso separato. Il fitto della casa è di 4 franchi al mese. La miniera di Hasard possiede 81 case in due reparti; la cité de Micheroux con 36 case e la cité des Trois Chênes con 29.

In Inghilterra presso le miniere vi sono case che si pagano a 150 franchi l'anno. Ciascuna casa è abitata da una famiglia. La miniera di carbon fossile di Harton possiede presso South-Schiedels in Durham 500 case operaie.

Anche negli Stati Uniti vi sono case operaie presso le miniere, che si affittano a prezzi bassissimi.

In Germania si segue generalmente il principio di non costruire grandi fabbricati, ove possono prendere alloggio molte famiglie, perchè contrari alle regole igieniche, e si preferisce invece fabbricare case, ove possono alloggiare due sole famiglie.

Per molte classi operaie l'esponente del loro stato economico spesso non è dato esclusivamente dalla mercede. Infatti nell'industria mineraria in Sardegna a migliorare notevolmente tale stato concorrono alcune *istituzioni dirette ad educare intellettualmente e moralmente l'operaio e la sua famiglia, ad agevolarne la vita materiale, ad assisterlo nelle malattie, ad assicurarlo nelle invalidità e negli infortuni, al incoraggiarne e facilitarne il risparmio.*

Le Società delle miniere di Monteponi, Malfidano (a Buggerru), Montevecchio e Nebida spendono annualmente per le scuole e pel culto lire 12,500.

Alla educazione intellettuale esse provvedono con proprie scuole o con quelle di Comuni vicini, concedendo anche sussidi. Le spese in genere si estendono all'acquisto di libri e di materiale didattico, che le Società forniscono gratuitamente.

La Malfidano concede borse agli studenti di Iglesias (a preferenza figli di operai della Società), il concorso pei maestri elementari a Buggerru e le spese per le scuole serali pure a Buggerru.

La Società di Nebida spende circa lire 4000 all'anno per le scuole, e vi ammette anche ragazzi che non appartengono al personale delle miniere. Gli alunni inscritti raggiungono quasi il centinaio. All'ampio ed igienico locale è annesso un refettorio.

Anche in Francia la maggior parte delle amministrazioni delle miniere hanno scuole a proprie spese. Così ad esempio nelle miniere di Blanzy nel 1888 vi erano 13 scuole elementari con 118 insegnanti e 5702 alunni.

In Inghilterra vi sono biblioteche e camere di lettura per gli operai dirette da una commissione di operai e mantenute a spese dei minatori.

In Germania le direzioni delle miniere danno i libri gratuitamente ai figli dei minatori.

Nella città d'Iglesias, centro del movimento minerario dell'Isola, sorse nel 1883, per iniziativa del Consiglio d'amministrazione della benemerita Società di Monteponi, una cooperativa di consumo fra gli

operai ed il personale addetto alla coltivazione delle miniere ed alla industria mineraria.

Gli scopi della istituzione sono:

a) di procacciare ai propri soci nel modo più agevole e più economico gli articoli e gli oggetti di consumo e di uso domestico dell'arte loro;

b) di fare a pro dei propri soci e loro famiglie opera di beneficenza con sussidi in caso di malattia o di morte, con la cura medica o in quelle altre forme che saranno reputate più conformi ai bisogni ed alle circostanze, non che ai mezzi, di cui dispone la Società.

c) di promuovere l'educazione e l'istruzione dei figli dei soci;

d) di formare una cassa per la vecchiaia e promuovere quelle istituzione od opere destinate alla protezione del lavoro, alla assicurazione sulla vita ed in caso d'infortunio, nonchè al risparmio.

Nel quinquennio fra il 1892 e 1897 i soccorsi per malattie e morte o invalidità, o rimpatrio distribuiti dalla cooperativa ai soci ascesero a lire 19,064. 40.

Nel 1899 il capitale sociale in movimento fu di lire 643,089. 97.

Sotto gli auspici della stessa Società di Monteponi e della cooperativa sorse nel 1893 un Istituto col titolo di « Cucine economiche di Monteponi », diretto a fornire alla classe lavoratrice cibi preparati secondo le regole d'igiene e dell'economia domestica al puro prezzo di costo, escluso ogni carattere di speculazione.

Nel quinquennio 1893-97 l'introito fu di lire 45,817. 49; la spesa di lire 46,150. 10 con una differenza passiva di lire 332. 60 che venne ammortizzata al 30 dicembre 1897.

I fondi necessari all'impianto ed all'esercizio furono provvisti mediante contributi e prestazioni delle due Società sotto i cui auspici l'Istituto venne fondato.

Anche nelle miniere dell'estero si sono istituite cooperative di consumo e cucine economiche, specialmente in Francia ed in Germania.

Per un articolo dello statuto della stessa Società di Monteponi fu anche istituita in sezione autonoma, una cassa per la vecchiaia, che nel quinquennio 1893-97 erogò per pensioni ai soci invalidi lire 6034. 70.

A Buggerru funziona « L'Unione cooperativa » con brillantissimi risultati, e la Società di Malfidano aiuta la formazione di consimile istituzione nelle altre sue miniere.

Altre istituzioni di beneficenza sotto vari titoli sono sorte presso le singole Società e da queste sono più o meno sussidiate.

La Vieille Montagne ha istituito una cassa di soccorso prima alimentata in parte con fondi della Società ed in parte con la ritenuta del 4 $^{\circ}/_{0}$ sul salario degli operai, poscia, verso il 1896, sostenute esclusivamente a carico della Società stessa. I benefici largiti dalla cassa nel quinquennio 1893-97 ascesero a lire 6248.

La stessa Società ha assicurati a proprio carico alle casse nazionali tutti i suoi operai ed istituita una cassa-pensioni per gli impiegati di amministrazione e loro famiglie.

Le basi sulle quali questa cassa dà le pensioni sono le seguenti:

A 60 anni di età e con 30 anni di servizio l'impiegato ha 1/5 del suo stipendio fisso più 1/100 di esso stipendio per ogni anno servito (minimum franchi 900), in caso di morte dell'impiegato, la vedova ha la metà della pensione spettante al marito ed ogni figlio, fino a raggiungere l'età di 18 anni, 1/10 della pensione spettante al genitore. Gli orfani, di padre e di madre, 1/4 della pensione spettante al padre fino a raggiungere l'età di 20 anni.

L'impiegato versa per questa pensione il 5 $^{\circ}/_{0}$ del suo stipendio fisso. La cassa che è costituita coi fondi della cassa d'assicurazione sulla vita col contributo degli impiegati e con egual somma elargita dalla Società, ha raggiunto al 31 dicembre 1897 la ragguardevole cifra di lire 838,978. 25, di modo che la sua stabilità è assicurata.

Notisi in ultimo che l'impiegato in Sardegna gode nei tre mesi d'estate di un aumento del 50 $^{\circ}/_{0}$ sullo stipendio.

Ha inoltre fondata una cassa di risparmio, in condizioni favorevoli agli impiegati ed operai delle sue miniere, nella quale la somma depositata era al 4 dicembre 1897 di lire 44,893.

La Società di Nebida, fino dal 1893, ha assicurato i suoi operai contro gli infortuni sul lavoro, corrispondendo a questo scopo lire 7000 all'anno alla Cassa nazionale d'assicurazione. La famiglia della vittima in caso di morte per infortunio riceve un capitale pari all'ammontare di 800 giornate di salario che il defunto percipiva; nel caso di invalidità permanente al lavoro l'operaio riceve a seconda i casi il 50-80 $^{\circ}/_{0}$ della somma fissata pel caso precedente.

La stessa Società largisce soccorsi e pensioni ai suoi operai, senza fare ritenuta alcuna sul loro guadagno.

La Società Correboi fino dal 1890 ha assicurati alla suaccennata cassa i suoi operai contro gli infortuni ed alle seguenti condizioni:

In caso di morte o invalidità permanente dell'assicurato viene pagata la somma corrispondente a 4 volte il salario annuo.

In caso d'invalidità una indennità varia a seconda viene stabilito dalle condizioni d'assicurazione.

Per la legge 1898 per gli infortuni sul lavoro tutti gli operai delle miniere sono assicurati in modi analoghi ai suaccennati.

Le più importanti Società minerarie dell'Isola hanno *ospedali* propri. Le miniere di minore importanza hanno infermerie e solo gli ammalati gravi sono mantenuti a spese delle rispettive Direzioni negli ospedali delle Società maggiori, o curati a domicilio.

La direzione dello spedale o del servizio sanitario è affidato ad uno o più medici residenti nelle miniere, la cui scelta è d'ordinario fatta a concorso per titoli.

Non di rado è annessa a questi ospedali una farmacia od un



Fig. IV.

armadio farmaceutico, e le medicine sono fornite gratuitamente agli operai ed alle loro famiglie.

Le Società minerarie aventi ospedale proprio sono la Monteponi, la Vieille Montagne, la Malfidano (a Buggerru), la United Mines C. L. (a Malacalzetta), la Montevecchio (vedi figura annessa), la Gennamari Ingurtosu, la Nebida, la Tacconis-Sarrabus (a Masua), la Lanusei (a Montenarba), la Rio-Ollastu (presso S. Arcillonis) e la Correboi (all'Argentiera).

Nel quinquennio fra il 1892 e 1897 la spesa media annua sostenuta pel mantenimento degli ammalati, sia negli ospedali (non compresi

quelli della Tacconis, della Rio-Ollastu e della Correboi per le quali mancano i dati), che nelle infermerie annesse in altre miniere della stessa Società fu di lire 122,906.

Le miniere sono provviste inoltre di barelle pel trasporto dei feriti, e nei punti isolati di miniere e di permessi di ricerca si hanno cassette con medicinali e mezzi di soccorsi di urgenza.

Gli ammalati a domicilio sono sussidiati.

Il seguente prospetto dà un concetto del movimento di ammalati in alcuni dei suaccennati ospedali:

SOCIETÀ alla quale appartiene l'ospedale	Numero dei letti	Spesa media annua nel quinquennio 1893-97	Media annua degli ammalati ricoverati	Media annua delle giornate di ospedalità	Media annua dei visitati in ambulatori
Monteponi	27	15 850. 50	351	4 311	10 583
Vieille Montagne . .	18	10 263. 45	530	11 114	2 450
	18	**15 902. 97**	**1 775**	**24 552**	**10 842**
Malfidano.	36	—	869	8 912	—
Correboi	6	—	60	441	1 392

Nell'ospedale della Vieille Montagne sono curati gratuitamente non solo gli operai, ma anche le loro famiglie. L'ospedale conteneva a principio 18 a 20 letti, ora è capace di contenerne il doppio; in esso vengono oggi ricoverati a pagamento ammalati inviativi e mantenutivi da altre Società minerarie e da comuni vicini. L'ambulatorio annesso è frequentato non solo dagli operai della Società, ma anche dai poveri d'Iglesias e dei comuni vicini.

Nella tabella innanzi riportata la seconda serie di cifre, riferibili all'ospedale della Società anzidetta, indica il movimento di ammalati non appartenenti alla miniera e la spesa relativa, e quindi la somma di lire 15,902. 97 di fatto va solo in parte a carico della Società che realmente spende per ciascun ammalato lire 3. 64 al giorno, mentre le altre Società che inviano ammalati nel suo ospedale le corrispondono una ospedalità di lire 2. 75 e i comuni di lire 2. 25.

***

Volendo riassumere in poche parole i risultati delle nostre ricerche possiamo dire:

1° che l'aria delle miniere di piombo può essere dannosa alla salute degli operai principalmente per la temperatura elevata e per la quantità considerevole di vapor d'acqua e di acido carbonico;

2° che per togliere questi inconvenienti sarebbe utile lo impianto di ventilatori elettrici e di luce elettrica;

3° che la morbosità e la mortalità degli operai delle miniere sarde non è superiore a quella che si osserva in altre classi operaie;

4° che la scarsezza delle mercedi percepite da alcuni operai potrebbe essere compensata dalla istituzione di opere di beneficenza da parte delle Amministrazioni;

5° che l'educazione dell'operaio adulto all'uso razionale dei propri guadagni e del tempo libero da lavoro gioverebbe molto a stabilire tale compenso;

6° che le Amministrazioni dei comuni prossimi alle miniere, le quali dalla industria mineraria risentono benefizi non indifferenti, dovrebbero efficacemente concorrere a migliorare sotto ogni riguardo le condizioni degli operai.

Cagliari, settembre 1901.

ISTITUTO D'IGIENE DELL'UNIVERSITÀ DI ROMA

Sull'illuminazione a gas acetilene studiata dal punto di vista dell'igiene

per il dott. **M. MASI.**

Dal 1895 il gas acetilene è andato sempre più generalizzandosi come mezzo d'illuminazione, non solo pubblica, ma anche privata, tanto che la produzione ed il consumo del carburo di calcio, da quell'epoca ad oggi, aumentarono grandemente.

Tale mezzo d'illuminazione non fu sino ad ora mai sottoposto ad uno studio metodico dal punto di vista dell'igiene, quindi non fu bene accertato se l'uso di detto gas acetilene sia da preferirsi o meno agli altri mezzi d'illuminazione.

Infatti dagli studii che riguardano quest'argomento si rilevano soltanto dei dati incompleti, che non risolvono esaurientemente tutti i vari problemi che l'igiene vorrebbe trattati a proposito dell'illuminazione col gas acetilene.

Il prof. Celli, a colmare tale lacuna, m'incaricò di fare il seguente studio sperimentale.

Innumerevoli sono gli apparecchi che servono per lo sviluppo dell'acetilene, apparecchi per lo più incompleti e che hanno prodotto non lieve intoppo all'uso di questo gas, come mezzo illuminante, essendo da attribuirsi la maggior parte delle accidentalità verificatesi, alle imperfezioni, ed alla cattiva costruzione di tali apparecchi.

I migliori gasogeni fino ad oggi conosciuti si possono raggruppare in quattro categorie, di ognuna delle quali accennerò, per amore di brevità, le caratteristiche principali:

I. Apparecchi nei quali l'acetilene si ottiene sotto una pressione di poco superiore a quella atmosferica. Questa categoria si suddivide in:

a) generatori a scolo d'acqua sul carburo;

b) generatori nei quali l'acqua, salendo, viene a contatto col carburo;

c) generatori a caduta di carburo nell'acqua.

II. Apparecchi nei quali l'acetilene si ottiene sotto forte pressione fino alla liquefazione.

III. Apparecchi destinati specialmente alla liquefazione dell'acetilene.

IV. Apparecchi destinati alla produzione dell'acetilene liquido.

Gli apparecchi comunemente usati per la produzione del gas acetileno, a scopo d'illuminazione, sono quelli appartenenti alla prima categoria, che in Italia, fra molte altre la Società Italiana pel carburo di calcio, con sede in Roma — fa costruire e tiene in vendita. — Detta Società, nel catalogo degli apparecchi, pubblicato in questo anno, li suddivide nelle seguenti serie:

A. Apparecchi automatici con generatori fissi.

B. Apparecchi con generatori asportabili, per modo che la carica, volendo, possa farsi all'aperto:

1. Apparecchi a grande carica, da adoperarsi per quegli impianti in cui il consumo serale sia relativamente piccolo, per modo che la ricarica si possa fare a lunghi intervalli.

2. Apparecchi automatici a caduta di carburo nell'acqua, destinati ad impianti di una certa importanza.

A seconda della produzione di acetilene e delle fiamme della forza di 20 candele ciascuna, che possono essere necessarie per una data illuminazione, il prezzo dei suddescritti apparecchi varia da un minimo di lire 130 (produzione di 300 litri d'acetilene, sufficiente ad alimentare 8 fiamme di 20 candele ciascuna per 2 ore) ad un massimo di lire 2850 (produzione di 90,000 litri di acetilene, sufficienti ad alimentare 1000 fiamme di 20 candele ciascuna per la durata di 6 ore).

Oltre gli apparecchi su accennati meritano speciale considerazione:

1. Il gazogeno d'acetilene R. Mazzocchi.

2. Il gazometro De Pascale e Garbuglio, premiato con medaglia d'oro all'Esposizione di Roma.

Questi due ultimi apparecchi sono entrambi costruiti in Roma, e sono garentiti dai costruttori.

Le *applicazioni industriali* dell'acetilene sono molto estese, e si possono raggruppare come appresso:

I. Applicazione all'illuminazione:

a) all'illuminazione ordinaria;

b) all'illuminazione dei vagoni, tramways, stazioni;

c) all'illuminazione delle proiezioni, ed applicazioni alla fotografia:

d) alle lampade campione Niolle;

e) alla carburazione ed arricchimento del gas del carbon fossile, del gas acqua, ecc.

II. Applicazione al riscaldamento ed alla forza motrice;

III. Applicazioni chimiche:

a) carburazione del ferro, fabbricazione del piombo, ecc.;

b) fabbricazione del nero d'acetilene;

c) fabbricazioue del iodoformio, dell'alcool, ecc.;

Stimo necessario far precedere anche un cenno sui principali *caratteri fisici e chimici del gas acetilene.*

L'acetilene è un gas senza colore; allo stato di purezza ha odore etereo piacevole, se impuro ha odore spiacevole di aglio: bruciando completa-

mente in un becco non dà alcun odore. Ha una densità di 0. 91 in confronto all'aria; il suo peso molecolare è di 26; un litro pesa gm. 1,169 a 0° e 760 mm.

Il suo grado di solubilità nei diversi liquidi, alla pressione di 760 mm. e 0° C è dato dalla seguente tabella:

Acqua satura di cloruro di sodio .	0. 05
Acqua comune	1. 00
Solfuro di carbonio	1. 00
Petrolio raffinato	1. 50
Essenza di trementina	2. 00
Cloroformio	4. 00
Benzina	4. 00
Alcool assoluto	6. 00
Acetone	31. 00

Dal Villard fu trovato che il calore di combustione dell'acetilene con l'acqua è di 15. 4 calorie per molecola; e che il calore di combustione molecolare è di 314. 07 calorie.

Mescolato con l'aria in proporzione di 1 volume d'acetilene ed 1 1/4 di aria, acquista potere esplosivo; la violenza esplosiva diventa massima quando la miscela contiene 12 volumi d'aria e poi diminuisce gradatamente con l'aumento della quantità d'aria, fino ad essere nulla quando ad 1 volume d'acetilene s'uniscono 20 di aria.

L'acetilene può da solo servire come gas illuminante e può anche servire per arricchire il gas carbone ed altri gas poveri.

L'acetilene si liquefà alla temperatura di 0° e sotto la pressione di 26 atmosfere; si presenta come liquido molto mobile e molto rifrangente, che scioglie la paraffina ed i grassi; la sua densità a 0° è di 0. 56. Un volume di acetilene liquido a 0°, lasciato evaporare alla stessa temperatura colla diminuzione della pressione, ci fornisce 387 volumi di acetilene gazoso.

Evaporando l'acetilene liquido all'aria si raffredda ancora e si converte in acetilene solido, niveo, del tutto simile all'anidride carbonica solida.

L'acetilene è un idrocarburo gassoso non saturo, che è rappresentato dalla formula $C^2 H^2$.

L'acetilene in piccola quantità non è dannoso all'uomo. Esercita azione tossica su molti insetti.

Secondo però i risultati ottenuti da Celli e Casagrandi (1) l'acetilene non ha azione tossica sulle zanzare.

Dagli studi di N. Gréhant, di Frank e di Weyl (2) risulta che questo gas misto all'aria, comincia ed essere dannoso quando si trova nella proporzione del 46 per cento; nel rapporto del 79 per cento può produrre morte.

---

(1) *Contributo allo studio delle sostanze zanzaricide.* Questi Annali, volume X, 1899.

(2) Comptes rendus. Ber. d. deutsch. chem. Ges., 1895, pag. 2107.

È assorbito dal sangue e pare che si combini con gli albuminoidi principali. Le funzioni vitali non sono alterate se il sangue contenga per un po' di tempo il 10 per cento di acetilene.

Cenno delle precedenti ricerche. — Dopo molti esperimenti, si è veduto che, per ottenere una buona illuminazione con il gas acetilene, è necessario, che esso venga bruciato in convenienti beccucci, sotto una pressione di 70-80 mm. d'acqua al minimo, e che sia mescolato, prima di accenderlo, con l'ossigeno o con un gas inerte, che gli permetta di venire a contatto con una grande quantità di ossigeno atmosferico.

Per determinare il potere illuminante dell'acetilene s'è paragonato la quantità di luce fornita dal consumo d'un determinato volume di questo gas, e quella ottenuta dal consumo d'uno stesso volume di altro gas, con una candela campione.

Così B. Lewes (1) è venuto ai seguenti risultati riferibili alla candela campione inglese per un medesimo consumo di gas (5 piedi cubici, uguali a litri 141,6 all'ora). I risultati del Lewes ridotti a carcel e mc. sono i seguenti:

NATURA DEL GAS ADOPERATO PER L'ESPERIENZA	Potere luminoso espresso in	
	Candele-ore per 5 piedi cubici	Carcel-ore per metro cubo
Metano	5. 2	3. 5
Gas normale di Parigi	—	9. 6
Gas di Londra	16. 0	11. 5
Etano	35. 7	25. 0
Propene	56. 2	40 0
Etilene	70. 0	49. 0
Butilene	123 0	86. 0
Acetilene	240. 0	168. 0

M. Hempel (2), basandosi sul fatto che il potere luminoso d'un gas, varia a seconda che esso venga bruciato in becchi di diverso

(1) Chemiker Zeitung, 1895, pag. 1127.
(2) Deuxième supplément au Dictionnaire de Chimie. Wurtz, trente-septième fascicule, pag. 526.

tipo, ha sperimentalmente dimostrato che la quantità di luce data dal consumo di ogni mc. di gas comune, e quella data dallo stesso consumo di acetilene, varia secondo la forma del becco; come rilevasi dalla seguente tabella:

NOME DEL GAS servito all'esperienza	NOMI DEI BECCHI impiegati	Quantità di gas bruciato all'ora espressa in litri	Potere luminoso espresso in carcel	
			Misura fotometrica	Per metro cubo
Gas ordinario	Becco Bougie	150. 46	1. 7	11. 20
	Id. Bengel	160 40	2. 1	13. 10
	Id. Siemens 4 . . .	200. 00	4. 4	22. 00
	Id. id. 2 . . .	501. 50	17. 2	28. 60
	Id. id. 00. . .	2404. 40	85. 8	35. 70
	Id. Auer.	121. 30	5. 9	48. 60
Acetilene	Becco a farfalla. . . .	35. 00	5. 9	166. 60
	Id. id.	67. 50	12. 8	190. 20
	Id. id.	92. 20	18. 9	205. 00

Dalle cifre esposte nelle due precedenti tabelle si nota che l'acetilene ha un potere illuminante 15-20 volte maggiore di quello del gas di carbon fossile, bruciato in becchi ordinarii, e di 3. 5-4 volte maggiore del gas ordinario, bruciato nei becchi Auer.

Bruciando l'acetilene in un becco finissimo, e consumandone mezzo litro all'ora, si ottiene una fiamma chiara, assolutamente fissa: il gas ordinario, nelle medesime condizioni, dà una fiamma bleu, non luminosa, oscillante alla minima corrente d'aria.

La fiamma dell'acetilene è completamente luminosa, la sua luce è piacevole, vivace, gradevole all'occhio.

L'ingegnere Lanino, analizzando la luce, ha riscontrato la seguente composizione di colore, che ha riferito a quella della luce solare come unità, e l'ha confrontata alla composizione delle altre sorgenti luminose più in uso:

COLORI	Luce solare	Luce elettrica		Gas di carbone		Acetilene	
		Incandescenza	Arco	Becco ordinario	Auer reticelle nuove	Puro	Miscela al 30 % d'aria
Rosso	1	1.48	2.09	4.07	0.37	1.83	1.03
Giallo.	1	1.00	1.00	1.00	0 90	1.02	1.02
Verde.	1	0 62	0.99	0.47	4.30	0.76	0.71
Turchino.	1	0.91	0.87	1.27	0.74	0.94	1.46
Viola	1	0 17	1.03	0.16	0.83	1.12	1.07
Ultra violetto. . . .	1	—	1.21	—	—	—	—

Da tale raffronto di cifre risulta la somiglianza della luce dell'acetilene a quella solare ed anche a quella dell'arco voltaico; e ciò spiega come torni splendente, brillante alla luce diffusa del giorno.

La vivacità della fiamma è molto forte, tanto, che per i locali d'abitazione è indispensabile l'uso di paralumi di vetro a smeriglio per non stancare l'occhio.

Questo fatto è in rapporto con il coefficiente di radiazione, cioè con il potere luminoso riferito all'unità di superficie della fiamma, che rispetto ad altre fiamme ordinarie è piuttosto elevato, come si rileva dalla seguente tabella:

Nome del gas servito all'esperienza	Coefficiente di radiazione
—	—
Acetilene.	4.00
Gas in becco a farfalla	0.06
Auer.	2.00
Arco voltaico.	480.00
Incandescenza elettrica	30.00
Luce ossidrica	700.00

M. Le Chatelier (1) ha calcolato a 2400° la temperatura di combustione dell'acetilene, bruciato con l'aria, cioè di 500° gradi superiore

(1) Deuxième supplément au Dictionnaire de Chimie. Wurtz, pag. 529.

alla temperatura di combustione del gas ordinario, la quale è di 1900°.

D'altra parte M. Viviant B. Lewes, con il pirometro elettrico dello Chatelier, ha misurato la temperatura delle diverse parti costituenti la fiamma dell'acetilene, l'ha confrontata con quella dei differenti gas, ed è venuto ai seguenti risultati:

PARTE DELLA FIAMMA	Acetilene	Etilene	Gas ordinario
Zona oscura	459°	952°	1023° C.
Principio della zona luminosa	1411°	1340°	1658° C.
Presso l'estremità della zona luminosa . .	1517°	1865°	2116° C.
Potere illuminante del gas con un consumo di 140 litri all'ora	240	68. 5	16. 8 candele

Da questa tabella risulta che la temperatura invece d'essere proporzionale alla quantità di luce fornita, è al contrario in ragione inversa.

Difatti introducendo nel centro della fiamma un filo di ferro del diametro di mezzo mm. noteremo che il filo non fonde, sarà poco incandescente e si ricoprirà d'un abbondante deposito di carbone.

Questo fatto sembrerebbe difficile a conciliarsi collo splendore della fiamma dell'acetilene; ma il Pelissier invece ne dimostra l'intimo rapporto nel seguente modo.

Il Pelissier (1) considera una fiamma d'acetilene nella sua massima luce ed ammette che il gas combustibile debba essere mescolato ad un volume d'aria considerevole: ciò posto, egli fa il seguente ragionamento:

L'acetilene nell'infiammarsi si decompone, producendo una grande quantità di calore; ora il calore che proviene dalla decomposizione esotermica si porta quasi esclusivamente su i prodotti di questa decomposizione, cioè su le molecole del carbone e dell'idrogeno. Infatti quando si fa esplodere l'acetilene in una capsula con fulminato di mercurio, si osserva che la sottile carta che involge il fulminato è semplicemente bucata dall'esplosione, ma per niente

(1) Deuxième supplément au Dictionnaire de Chimie. Wurtz, trente-septième fascicule, pag. 529.

carbonizzata, quantunque l'acetilene sia stato decomposto con emissione di luce, e la temperatura abbia raggiunto un calore per il quale la carta avrebbe dovuto essere distrutta. Solamente le particelle di carbone si trovano ad altissima temperatura, mentre l'aria del centro della fiamma, affogata, stipata da esse particelle (semplicemente riscaldata per irradiazione e dalla combustione dello idrogeno), è ad una temperatura molto più bassa.

Dunque si capisce facilmente come la temperatura del carbone, che forma una piccola parte del volume gassoso costituente la fiamma, possa essere molto elevata, mentre la temperatura centrale, misurata con la coppia termoelettrica, sia molto più bassa.

Bisogna inoltre notare che il numero delle particelle di carbone, portate all'incandescenza è grande, e che le dimensioni di ciascuna di esse sono estremamente piccole, per la qual cosa esse tendono a raffreddarsi per irradiazione con grandissima facilità.

Riassumendo, possiamo stabilire che la fiamma dell'acetilene non è comparabile ad una massa omogenea portata ad alta temperatura uniforme; essa è composta da diverse sostanze portate a temperature differenti; le particelle di carbone sono portate ad altissima temperatura, mentre la temperatura centrale è molto debole.

Riguardo alla produzione di gas secondarii che accompagnano l'acetilene, specialmente quando si abbia un carburo poco puro, esistono esperienze di Hampel (1), Vertess (2), Murlot (3), Caro (4), Moisson (5), riferite da Roeseler (6), dalle quali si deduce che nell'aria possono pervenire solo i prodotti gassosi dell'azoto, mentre l'idrogeno fosforato, che brucia, si depone nel beccuccio e lo ostruisce. Per ciò che riguarda la produzione dell'anidride carbonica, dell'ossido di carbonio e del vapore acqueo, esistono cifre disparate e non concordanti, fondate su calcoli di tavolino, piuttosto che su esperienze [Wyatt (7), Berthelot (8)].

Da quanto ho esposto, rilevasi chiaramente che i tecnici hanno avuto di mira, nelle loro osservazioni, di dimostrare la superiorità dell'illuminazione dell'acetilene su tutti gli altri sistemi d'illuminazione fino ad oggi conosciuti.

---

(1) Ges. Ing. 1895, N. 10.
(2) Ges. Ing. 1898, N. 14.
(3) (4) (5) (6) Deutsche Vierteljahrsschrift etc. 1900. *Gesundheitliche Uebelstände und Gefahren der Acetylenbeleuchtung und ihre Verhütung*, pag. 541.
(7) Chemical News, t. XLIII.
(8) Ann. Ch. Ph., pag. 413.

La loro attenzione ed i loro sforzi sono stati esclusivamente rivolti al perfezionamento dei mezzi produttori del carburo: al perfezionamento dei generatori dell'acetilene ed alla costruzione di adatti e convenienti becchi per la combustione di detto gas.

Esperienze proprie.

Ho serbato l'istesso metodo tenuto dal prof. Serafini nello studio sulla carburazione del gas illuminante; cioè ho eseguito le mie ricerche in un ambiente posto nelle peggiori condizioni di ventilazione naturale, perchè, come giustamente fece notare il Serafini in detto suo lavoro, all'igienista, più che lo stabilire se una luce produca questa o quella sostanza, in tale o tale altra quantità, importa conoscere se essa luce nelle condizioni nelle quali può funzionare negli ambienti abitabili dall'uomo, alteri l'aria, in modo da renderla perniciosa alla respirazione e da impedire il sano svolgersi dei processi vitali.

Per giudicare ciò è necessario innanzi tutto stabilire le condizioni a cui deve rispondere una illuminazione artificiale normale: condizioni che si possono raggruppare così:

a) L'illuminazione deve dare la luce necessaria in modo costante e senza notevoli oscillazioni nell'intensità;

b) la qualità della luce deve somigliare per quanto è possibile a quella del sole;

c) Il calore raggiante della fiamma non deve infastidire le persone e la temperatura dell'ambiente non deve aumentare di molto;

d) I materiali illuminanti non devono immettere nell'aria dell'ambiente sostanze nocive alla salute;

e) Non deve esservi alcun pericolo d'esplosione;

f) Devesi avere il massimo buon mercato possibile.

I su accennati caratteri ho preso come capi saldi delle mie osservazioni sperimentali, tenendo presente che l'aria da un'illuminazione artificiale può essere alterata, da una parte per il consumo di ossigeno ed aumento di calore; dall'altra per la presenza dei prodotti della combustione completa della sostanza illuminante e dai prodotti della combustione incompleta, oltre di quelli che possono derivare dalla composizione della sostanza stessa.

Le ricerche da me eseguite, sono state fatte in una camera di forma rettangolare, dell'altezza di m. 2,47, sita nella cantina del R. Istituto d'Igiene, avente un sol muro esterno, che guarda il nord, il pavimento impermeabile, distante dalla superficie esterna del suolo m. 2,40, ed il soffitto a volta.

Una specie d'intercapedine separa il lato libero dal terreno costituente un giardinetto: e da quel vuoto a mezzo di due finestre penetra nella camera la luce diffusa. La sua capacità totale è di mc. 44,21, compreso lo spazio occupato dalle nicchie delle finestre, della porta, e dalla volta; e sottratto il volume di due tavoli da lavoro che vi si trovavano durante le esperienze.

Per avere la minima ventilazione naturale, durante le esperienze, chiudeva tutte le fessure ed i buchi delle finestre e della porta, incollandovi della carta, e solo l'ala della porta, che doveva essere aperta per l'ingresso nei momenti determinati, restava libera.

In detta camera, a 10 cm. di distanza dal muro opposto al muro esterno, e dal muro di fronte alla porta d'ingresso trovavansi due tavoli.

Su di un tavolo erano disposti tre aspiratori, dei quali uno era in comunicazione coll'apparecchio di Von Pettenkofer per la determinazione dell'anidride carbonica; l'altro con due bottiglie di lavaggio per la determinazione delle sostanze organiche, e ricerca dell'ammoniaca ed acido nitroso; il terzo infine con un'altra bottiglia di lavaggio per la ricerca dell'ossido di carbonio.

Su l'altro tavolo era il psicometro d'August per la determinazione della umidità, una campanina graduata per la determinazione dell'ossigeno ed un apparecchio per la ricerca dell'idrogeno solforato, il quale apparecchio era in comunicazione con un aspiratore metallico.

La camera veniva illuminata da tre fiamme di acetilene; una centrale, un'altra fissata al muro di fronte alla porta, e la terza fissata al muro dirimpetto a quello esterno, e distanti dai rispettivi muri 30 cm.

Ciascuna delle tre lampade aveva una intensità luminosa di 20 candele Hefner ed a diverse distanze dal centro di esse erano sospesi tre termometri divisi in decimi di grado.

Le esperienze venivano eseguite col seguente ordine:

Col barometro Fortin notava la pressione atmosferica, e ne faceva le debite correzioni; dopo chiudeva ermeticamente le finestre e la porta, così come ho innanzi detto, e determinava l'umidità dell'ambiente per mezzo del psicrometro.

La temperatura dell'ambiente mi era indicata da quella che segnava il termometro asciutto del psicrometro. Ciò fatto, a mezzo dell'eudiometro, serbando tutte le prescrizioni e cautele possibili, determinava la quantità d'ossigeno contenuta nell'aria, avendo cura di ridurre a 0° e 760 il volume d'aria immessa nel tubo.

L'acido carbonico è stato determinato con il metodo di Pettenkofer; versava nel tubo 250 cc. di soluzione di barite, ne aspirava 25 cc. che metteva in un piccolo matraccio Erlenmeyr ad esatta chiusura, e mi servivano per determinarne il titolo. Chiudeva con speciale tappo il tubo del Pettenkofer, metteva in azione gli aspiratori, e dopo averli collegati con i relativi apparecchi, lasciava aspirare litri 41,736 d'aria con una velocità di litri 15 all'ora. I volumi d'aria aspirati sono stati sempre ridotti a 0° e 760.

Finita l'aspirazione leggeva la temperatura segnata dai tre termometri posti a differenti distanze dal centro delle fiamme, riprendeva dal tubo di Pettenkofer altri 25 cc. della soluzione di barite, che riponeva in matraccio Erlenmeyr, staccava le bottiglie di lavaggio dai relativi aspiratori ed accendeva le tre fiamme d'acetilene.

Sia il matraccio che le bottiglie erano portate nel laboratorio di chimica e quivi con il metodo di Pettenkofer determinava l'acido carbonico; col metodo di Kubel le sostanze organiche; col reattivo di Nessler faceva la ricerca dell'ammoniaca; e col metodo di Griess la ricerca dell'acido nitroso.

Dopo un'ora d'illuminazione notava di nuovo la temperatura esterna, la pressione barometrica, l'umidità, la temperatura interna, la temperatura a diverse distanze dalle fiamme e poi ripeteva tutto come ho detto innanzi.

Finita la seconda aspirazione, accendeva per un'altra ora le tre fiamme d'acetilene, e volendo vedere come procedeva l'alterazione dell'aria di ora in ora, ripeteva in ogni ora tutte le determinazioni, fino al numero di 4.

I risultati di 4 ore li ho riuniti in serie, e di queste ne ho eseguite cinque, dimodochè in tutto ho fatto 20 determinazioni. Dopo ciascuna serie faceva ventilare l'ambiente per 19 o 20 ore ed il giorno seguente con lo stesso ordine, continuava le mie ricerche. Ciascuna delle prime tre serie fu eseguita in due giorni consecutivi, cioè notando per ogni giorno i risultati di due ore d'illuminazione: ciascuna delle ultime due fu eseguita in un solo giorno, e per le ragioni che dirò in seguito.

Accennato così brevemente il metodo tenuto nelle mie ricerche ne riferisco i risultati ottenuti, confrontandoli con quelli già noti degli altri sistemi d'illuminazione.

In ultimo trarrò quelle considerazioni che solo direttamente possono interessare l'igienista, per la qualcosa mi atterrò allo specchietto innanzi tracciato.

I. *Intensità e fissità della fiamma.* — Molto si è studiato e sperimentato sull'intensità luminosa, data dalla combustione del gas acetilene, ed io mi rimetto completamente a quello che ho detto innanzi parlando dei lavori di Lewes e di Hempel, dai quali è stato dimostrato che il potere illuminante è di 15-20 volte maggiore di quello del gas di carbon fossile.

Per le mie osservazioni mi servii dei becchi Brays 00000, ciascuno dei quali consumava all'ora 18 litri di gas acetilene.

L'intensità luminosa della luce, ottenuta dalla combustione dell'acetilene in detti becchi, fu da me determinata con il fotometro di Weber. Stante l'eccessiva bianchezza della luce in esame, non mi fu possibile, guardando attraverso il vetro trasparente, stabilire l'uniformità di colore; raggiunsi lo scopo usando i dischi di cristallo colorati in rosso e verde.

Da queste determinazioni ho constatato che ciascun becco Brays 00000 ha un potere luminoso di 20 candele Hefner.

Riguardo ai becchi, per l'acetilene, si può ripetere quello che è comune a tutti gli altri gas, cioè che il potere luminoso è in diretto rapporto con la forma del becco nel quale avviene la combustione.

Difatti accendendo un getto d'acetilene all'uscita d'un becco all'aria libera, come di quelli che s'impiegano per il gas di carbon fossile, si ottiene una fiamma rossastra poco luminosa e fuligginosa; ciò dipende dalla combustione incompleta, che non porta ad elevata temperatura le considerevoli particelle di carbone contenute nell'acetilene, condizione indispensabile per rendere la fiamma chiara.

Bisogna inoltre evitare il riscaldamento del becco poichè questo favorisce la polimerizzazione dell'acetilene, la formazione di idrocarburi liquidi (benzina) e solidi (naftalina, ecc.) i quali decomponendosi nella fiamma, danno un deposito di carbone che insudicia il becco e ne ostruisce i fori.

L'influenza della temperatura del becco sul rendimento luminoso dell'acetilene è stata sperimentalmente studiata da M. Bullier. Gli esperimenti furono fatti su un becco a tipo Manchester n. 1-1/2, avente l'estremità sporgente di steatite, il raffreddamento fu ottenuto da una corrente d'acqua che passava in modo continuo in una bacinella annessa piena di neve fino alla base della steatite.

Prima esperienza.

Pressione in mm. d'acqua 0.050	Intensità in candele
Il becco brucia in condizioni ordinarie.	8.92
Il becco brucia raffreddato in corrente d'acqua	13.10

In presenza di questo aumento considerevole del potere illuminante, il Bullier si propose di cercare l'aumento per candela, seguendo lo stesso ordine.

Ecco i risultati che ottenne:

PRESSIONE in millimetri d'acqua 0.050	Consumazione per ora in litri	Intensità in candele	Litri di gas acetilene per candele
Il becco bruciante nelle condizioni ordinarie	16.0 a 15.9	11.99 a 12.17	1.33 a 1.31
Il becco bruciante raffreddato da una corrente d'acqua (temperatura dell'acqua 14°)	19.1 a 19.0	17.10 a 16.64	1.12 a 1.14

Dallo specchietto si rileva che il consumo è di litri 1.31 per candela; mentre nelle condizioni speciali di raffreddamento è di

litri 1.13 per candela; si nota inoltre che dove il becco è raffreddato, il consumo orario aumenta, e che l'intensità luminosa, dovuta al raffreddamento, aumenta in ragione del 16 %. Questo secondo il Bullier è dovuto al ritardo della polimerizzazione, per cui i prodotti di essa non possono depositarsi nella testa del becco tipo Manchester.

Queste considerazioni fecero ideare a Bullier il tipo del becco a fiamme coniugate ed a miscuglio d'aria, il quale risponde bene allo scopo ed evita quasi tutti gl'inconvenienti.

Per ottenere con l'acetilene una fiamma chiarissima e non fuligginosa, è necessario che esso sia bruciato in presenza di una quantità considerevole di ossigeno, e questa condizione si realizza in due modi:

1° Dando al gas una forte pressione e facendolo bruciare in becchi a fessure finissime, in modo che il getto del gas così formato abbia una grandissima superficie, una debole spessezza e possa attingere dall'aria atmosferica la quantità d'ossigeno sufficiente per la combustione completa.

2° Mescolando l'aria o l'ossigeno con il gas, prima di bruciarlo; si ottiene lo stesso risultato diluendo l'acetilene con un gas inerte, il quale gli permetta di venire in contatto con una più considerevole quantità d'ossigeno atmosferico.

La pressione sotto la quale il gas è infiammato, ha così una grandissima importanza; dev'esser elevata per quanto più sia possibile, in modo che il getto gassoso si estenda lontano nell'aria e favorisca un contatto intimo con l'ossigeno, ed aumenti per conseguenza la quantità di luce prodotta per uno stesso volume di gas bruciato. Impiegando una forte pressione, si diminuisce anche il calore comunicato al becco, perchè la fiamma è allontanata da questo.

Senza soffermarmi sulla descrizione di tutti i vari sistemi di becchi, dirò che per la combustione dell'acetilene si possono usare i comuni becchi Brays da 0000 in giù purchè rispondano alle predette condizioni; si usi gas puro, e si abbia l'accortezza di pulire i becchi ogni giorno.

Ad ovviare inutili ripetizioni, aggiungo, che, attenendoci a quanto innanzi ho ricordato, la fiamma dell'acetilene, oltre ad avere uno splendore ad elevato potere luminoso, superiore a quello degli altri sistemi d'illuminazione, ha una fissità eccezionale.

II. *Qualità della luce.* — Gl'igienisti per giudicare i caratteri ottici d'una fiamma, pigliano come unità di confronto la luce solare.

la quale è costituita dal 50 °/₀ di raggi bleu, dal 18 °/₀ di raggi gialli, e dal 32 °/₀ di raggi rossi.

Il predominio dei raggi violetti ed ultra violetti esercita un'eccitazione più gradevole su la retina, di quello che non facciano i raggi rossi e gialli, ed una luce artificiale, che sia ricca dei primi, ha certamente dei requisiti preferibili sugli altri sistemi d'illuminazione, che ne siano privi o ne abbiano in difetto.

Ciò posto, se teniamo presente le cifre innanzi riportate dall'ingegnere Lanino e se confrontiamo la luce elettrica, quella del gas di carbon fossile, e gas acetilene alla luce solare, la luce più ricca di raggi violetti e che più si avvicina a quella del sole è la luce data dall'acetilene. Oltre a ciò essa è di una bianchezza tale da non potersi paragonare con alcun' altra luce, ad eccezione dell'arco voltaico.

III. *Produzione di calore.* — Essenziale importanza nell'alterazione dell'aria per via dell' illuminazione artificiale, esercita l'aumento della temperatura, poichè con esso viene impedito il regolare disperdersi del calore del nostro corpo, specialmente se l'alta temperatura è accompagnata anche da elevato stato igrometrico dell'ambiente, come è appunto il caso dell'aria d'un ambiente illuminato artificialmente.

L'Oddi (1) ha dimostrato che l'elevata temperatura influisce su tutto lo scambio respiratorio, e propriamente a misura che da 7° si sale a 35° si ha graduale diminuzione dell'emissione di acido carbonico e di vapore acqueo, avendosi per l'acqua un minimo di eliminazione a 15°.

Il Rubner (2) invece ha notato che la perdita d'acqua cresce da 0° a 15° del 41 °/₀ e da 15° a 35° del 79 °/₀ se l'umidità relativa dell'aria con l'aumento della temperatura resta lo stesso; la perdita d'acqua diminuisce solo nel caso che divenendo l'aria più calda, nel contempo sia più umida.

Non parlerò del potere calorifico della fiamma dell'acetilene, perchè ne ho detto abbastanza in altra parte: riporterò solamente i dati da me ottenuti riguardo al calore raggiante, alla distanza di m. 0.50, m. 1, m. 1.50 dalle fiamme.

---

(1) *Influenza della temperatura sul complessivo scambio respiratorio.* Archivio per le scienze mediche, vol. XIV, 1890, p. 403.

(2) *Die Beziehungen der atmosphärischen Feuchtigkeit zur Wasserdampfabgabe.* Archiv für Hygiene, vol. II, 1890, pag. 137.

Numero della serie	DURATA dell'illuminazione	Alla distanza di metri 0.50			Alla distanza di 1 metro			Alla distanza di metri 1.50		
		Prima	Dopo	Aumento per ora	Prima	Dopo	Aumento per ora	Prima	Dopo	Aumento per ora
I	1ª ora	21.6	23.7	2.1	21.6	21.8	0.2	21.6	21.8	0.2
	2ª ora	—	24.0	0 3	—	21.8	0.0	—	21.8	0.0
	3ª ora	21.0	23 3	2.3	21.0	21.2	0.2	21.0	21.2	0.2
	4ª ora	—	23.6	0.3	—	21.3	0.1	—	21.3	0.1
II	1ª ora	21.2	23.2	2.0	21.2	21.5	0.3	21.2	21.5	0.3
	2ª ora	—	23.6	0.4	—	21.5	0.0	—	21.5	0.0
	3ª ora	21.6	23.9	2.3	21.6	21.8	0.2	21.6	21.8	0.2
	4ª ora	—	24.1	0.2	—	21.8	0.0	—	21.8	0.0
III	1ª ora	21 2	23.4	2.2	21.2	21.6	0.4	21.2	21.6	0.4
	2ª ora	—	23.6	0.2	—	21.6	0.0	—	21.6	0.0
	3ª ora	21.4	23.3	1.9	21.4	21.7	0.3	21.4	21.7	0.3
	4ª ora	—	23.4	0.1	—	21.7	0.0	—	21.7	0.0
IV	1ª ora	20.0	22.1	2.1	20.0	20.4	0.4	20.0	20.4	0.4
	2ª ora	—	22.5	0.4	—	20.5	0.1	—	20.5	0.1
	3ª ora	—	22.7	0.2	—	20.6	0.1	—	20.6	0.1
	4ª ora	—	22.8	0.1	—	20 8	0 2	—	20.8	0 2
V	1ª ora	20.2	23.2	2 0	20.2	20.5	0.3	20.2	20.5	0.3
	2ª ora	—	23.5	0.3	—	20.7	0.2	—	20.7	0.2
	3ª ora	—	23.7	0.2	—	20.8	0.1	—	20.8	0.1
	4ª ora	—	23.7	0.0	—	20.8	0.0	—	20.8	0.0

La diminuzione di temperatura, che notasi dalla seconda alla terza ora nelle prime tre serie, è dovuta al fatto innanzi accennato, cioè che le esperienze delle prime tre serie furono fatte in due giorni consecutivi, per la qual cosa dopo la seconda ora di accensione, si sospendevano le operazioni, e venivano riprese nelle ore antimeridiane del giorno successivo. Quantunque, sia le finestre che la porta restassero sempre ermeticamente chiuse, pure è ovvio comprendere la diminuzione di 1 grado circa della temperatura dell'ambiente durante 15-17 ore.

Inoltre dall'esame dei precedenti risultati si osserva che l'aumento della temperatura del termometro distante m. 0.50 dalla fiamma è rilevante nella prima ora, poi quest'aumento procede quasi in ragione inversa del tempo trascorso.

Ciò si spiega da una parte con l'equilibrio che tende a stabilirsi tra corpi di diversa temperatura: dall'altra, specialmente per i prodotti gassosi, e coll'aumento della ventilazione naturale in rapporto all'aumento della temperatura.

Per gli altri due termometri situati alle rispettive distanze dalle fiamme di m. 1 e 1.50, si nota che le temperature si corrispondono sempre e coincidono con quelle dell'ambiente, misurata col termometro asciutto del psicrometro d'August.

Questo dinota che a tali distanze il calore raggiante dell'acetilene non è più risentito dai termometri, e ciò è in armonia colla legge fisica, che stabilisce che la intensità dei raggi calorifici diminuisce col quadrato della distanza.

Se poi si considera l'aumento della temperatura dell'ambiente dovuto all'illuminazione di 60 candele Hefner e per 4 ore, si nota come esso sia minimo, cioè circa di 1 grado.

IV. *Corruzione dell'aria.* — Tutti i materiali di illuminazione, ad eccezione della luce elettrica ad incandescenza, corrompono l'aria, sia con il consumo dell'ossigeno, sia con i prodotti della loro combustione completa, acido carbonico e vapore acqueo, sia per i prodotti della loro combustione incompleta.

Quasi tutti gli autori trascurano, nelle alterazioni che subisce l'aria per effetto dell'illuminazione, la diminuzione dell'ossigeno.

Il Fischer ed il Serafini si sono specialmente occupati di tale fatto, in rapporto ai diversi sistemi d'illuminazione a gas. Così il Fischer (1) trovò che il consumo dell'ossigeno per ogni metro cubo di gas, che brucia, è di mc. 1.12.

(1) *Ueber künstliche Beleuchtung.* Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege, vol. XV, 1883, p. 619.

Il Friedländer e Herter (1) dimostrarono che avviene nei conigli forte dispnea quando la proporzione dell'ossigeno è scesa al 7 %: inoltre è noto che gli areonauti Crocè, Spinelli e Sivel, giunti dove la proporzione dell'ossigeno era del 7. 2 % morirono.

Questa proporzione è difficilissima a raggiungersi per effetto di una illuminazione, per quanto pessime siano le condizioni di ventilazione dell'ambiente; però è necessario conoscere il consumo dell'ossigeno, poichè è indiscutibile che il difetto di esso unito all'aumento dell'acido carbonico, del vapore acqueo e dei prodotti della combustione incompleta, possono formare un complesso di condizioni per cui l'aria diventa insufficiente, anzi assolutamente inadatta alla nostra respirazione.

Infatti dalle ricerche di Raoult (2), Friedländer e Herter si deduce che quanto l'aria è più ricca d'acido carbonico altrettanto diminuisce l'assorbimento dell'ossigeno e l'eliminazione dell'acido carbonico dai polmoni.

Il Raoult ha dimostrato che quando l'aria inspirata contiene il 20. 8 % di O ed è priva di CO^2, il consumo di O è uguale a litri 1,975 per ora, e che la produzione di CO^2 è uguale a litri 1,515; laddove quando l'aria inspirata contiene il 20. 8 % di O e il 12. 1 % di CO^2, il consumo di O per ora è uguale a litri 1,008 e la produzione di CO^2 a litri 0. 918.

Per tutte le suesposte ragioni ho riunito nella seguente tabella i risultati inerenti al consumo dell'ossigeno ed all'aumento dell'acido carbonico, onde rilevarne meglio la proporzione.

---

(1) *Ueber die Wirkung des Sauerstoffmangels auf den thierischen Organismus.* Zeitschrift für physiologische Chemie, vol. III, 1879, p. 19.

(2) *Influence de l'acide carbonique sur la respiration des animaux.* Comptes-rendus de l'Académie des Sciences. T. 82, p. 1101, 1876.

Numero della serie	ORA della determinazione	Acido carbonico per metro cubo: Prima d'accendere	Dopo	Aumento per ora	Ossigeno %: Prima d'accendere	Dopo	Diminuzione per ora
I	1ª ora	0.06	0.23	0.17	18.00	16 98	1.02
	2ª ora	—	0.42	0.19	—	16.38	0.60
	3ª ora	—	0.60	0.18	—	15.98	0.40
	4ª ora	—	0.87	0.37	—	15.68	0.30
II	1ª ora	0.05	0.21	0.16	17.85	16.88	0.97
	2ª ora	—	0.34	0.13	—	16.34	0.54
	3ª ora	—	0.58	0.24	—	16.14	0.20
	4ª ora	—	0.85	0.27	—	16.06	0.08
III	1ª ora	0.07	0.23	0.16	17.74	16.74	1.00
	2ª ora	—	0.39	0.16	—	16.19	0.55
	3ª ora	—	0 60	0.21	—	76.00	0.19
	4ª ora	—	0.75	0.15	—	15.89	0.11
IV	1ª ora	0.04	0.22	0.18	18.1	17.12	0.98
	2ª ora	—	0.43	0.21	—	16.50	0.62
	3ª ora	—	0.60	0.17	—	16.19	0.31
	4ª ora	—	1.05	0.45	—	16 06	0.13
V	1ª ora	0.09	0.25	0.16	17.95	16.96	0.99
	2ª ora	—	0.49	0.20	—	16.38	0.58
	3ª ora	—	0.72	0.23	—	16.15	0.23
	4ª ora	—	1.04	0.32	—	16.05	0.10

Dalla precedente tabella risulta chiaramente che la produzione dell'acido carbonico si mantiene pressochè costante; nel mentre il consumo dell'ossigeno è maggiore nella 1ª ora di accensione, e poi cresce in ragione inversa col succedersi delle ore.

Riguardo al consumo dell'ossigeno, dopo quello che ho ricordato innanzi, credo superflua qualsiasi altra considerazione.

Quanto all'acido carbonico, esso si trova in tali proporzioni da non potere assolutamente riuscire nocivo.

Infatti il Lewin (1) ritiene che l'acido carbonico comincia a presentare sintomi velenosi alla proporzione del 3. 5 °/₀, divenendo mortale per l'uomo alla proporzione del 15-20 °/₀; l'Emmerich (2) alla proporzione del 6-8 °/₀; Regnoult e Riset assicurano potersi respirare a lungo senza nocumento, alla proporzione del 3-4 °/₀, proporzione che è lontanissima da quella che si riscontra nell'aria d'un ambiente illuminato. Von Pettenkofer prescrive che l'aria delle abitazioni non deve contenere oltre l'1, 5 °/₀ di CO^2 poichè una quantità superiore a questa può produrre in individui molto suscettibili, vertigini, nausea, dolori di capo, ecc., ed aggiunge che questi sintomi non si debbono esclusivamente all'acido carbonico in queste proporzioni ma ai prodotti di combustione incompleta.

Ciò non è rispondente alla realtà dei fatti, poichè da numerosissime esperienze s'è constatato che l'acido carbonico in tale proporzione non risulta nocivo alla salute e che i prodotti della combustione incompleta sono in proporzione inversa all'acido carbonico: e, secondo l'Erismann non può esistere nessun regolare rapporto tra la quantità di acido carbonico e quella dei prodotti della combustione incompleta, poichè il processo di combustione non procede sempre regolarmente nello stesso modo.

Ritornando all'ultima tabella si vede che la quantità massima di produzione d'acido carbonico è stata di 1. 05 per °/₀₀, però bisogna riflettere che essa è dovuta all'illuminazione di tre fiamme dell'intensità luminosa di 60 candele Hefner, per la durata di quattr'ore.

Riportando tale produzione di anidride carbonica a 100 candele, e confrontandola con quella data dal Cramer per gli altri sistemi d'illuminazione, si ha che:

---

(1) Lehrbuch der Toxikologie, 1885, p. 33.
(2) Zeitschrift für das gesammte Bräuwegen. Neue Folge, vol. XI, pag. 165. 1888.

Con un' intensità di 100 candele producono in 1 ora:

		Produzione in acido carbonico
Gas, lampada Siemens	Kg.	0.386
Gas, becco Argand	»	0.882
Petrolio, becco piccolo, piatto, 3 ore	»	1.648
Id. id. id. 8 ore	»	1.876
Id. becco grande, rotondo, 3 ore	»	0.549
Id. id. id. 8 ore	»	0.625
Paraffina	»	2.298
Stearina	»	2.443
Sevo	»	2.681
Acetilene	»	0.283

Dal raffronto di queste cifre si nota la grande differenza che esiste nella produzione di CO^2 tra l'acetilene e tutti gli altri sistemi d'illuminazione.

Altro prodotto che arriva nell'aria per effetto dell'illuminazione è il vapore acqueo.

L'eccessiva umidità derivante dall'illuminazione agisce sul nostro organismo in un duplice modo.

a) Un'aria umida è buona conduttrice del calore, mentre l'aria secca si può considerare come diatermana.

Ciò posto è evidente che l'aria d'un ambiente, resa più o meno umida dal vapore acqueo prodotto da una illuminazione artificiale, debba condurre meglio il calore che nelle lampade si genera, e quindi aumenta i fattori che impediscono il disperdimento del calore del corpo.

b) Quanto maggiore è lo stato di secchezza dell'aria che ci circonda, altrettanto maggiore è pure la quantità di acqua, che s'elimina dal nostro corpo e viceversa.

Si ha da ciò che un'aria il cui *deficit* di saturazione sia molto basso, impedisce pure l'eliminazione del vapore acqueo dai polmoni. Infatti l'aria espirata è sempre satura di vapore acqueo: ciò è dovuto al seguente fatto, che cioè l'aria inspirata, rispetto alla temperatura dei nostri polmoni è fredda, per la qual cosa, anche se satura di vapore acqueo, giunta in essi, rapidamente si riscalda, e per conseguenza è capace di assorbire altra acqua dai nostri polmoni. Si comprende facilmente come l'aria esterna perda tale proprietà se venga ad essere riscaldata e molto umida, e come venga se non annullata, moltissimo diminuita la perdita d'acqua per via dei polmoni; perdita che rappresenta i $^5/_{18}$ di quella totale, evaporata dal nostro corpo.

Diminuendo la perdita d'acqua sia per la via polmonare che per la cute, oltre ai disturbi dovuti per tale diminuzione in sè, viene

anche a mancare uno dei più importanti regolatori della nostra termogenesi, e quindi aumentano le condizioni che impediscono il disperdimento di calore, la cui mancata dispersione arreca grave danno all'organismo.

Detto così brevemente il danno che possiamo ricevere dall'aumentata umidità, dovuta ad un'eccessiva produzione di vapore acqueo per la combustione d'un materiale illuminante, raggruppo nella seguente tabella i risultati da me ottenuti riguardo l'illuminazione dell'acetilene.

Numero della serie	ORA della determinazione	Umidità assoluta		
		Prima	Dopo	Differenza per ora
I.	1ª ora	17.25	17.75	0.50
	2ª ora	—	17.95	0.20
	3ª ora	17.15	17.60	0 45
	4ª ora	—	17.85	0.25
II.	1ª ora	17.34	17.66	0.32
	2ª ora	—	17.81	0.15
	3ª ora	17.44	17.75	0.31
	4ª ora	—	17.95	0.20
III.	1ª ora	17.34	17.50	0.16
	2ª ora	—	17.66	0.16
	3ª ora	16.87	17.17	0.30
	4ª ora	—	17.37	0.20
IV.	1ª ora	15.73	16.23	0.50
	2ª ora	—	16.39	0 16
	3ª ora	—	16.49	0.10
	4ª ora	—	16.53	0.04
V.	1ª ora	16 27	16 78	0.51
	2ª ora	—	17.09	0.31
	3ª ora	—	17.14	0.05
	4ª ora	—	17.24	0.10

Da queste cifre si rileva che la quantità massima di vapore acqueo prodotto dall'illuminazione di 60 candele Hefner in un'ora è stata in media di gm. 0.20, che il massimo della produzione si ha nella prima ora, e che nelle ore successive l'aumento è in ragione inversa del succedersi di esse.

Confrontando questa quantità con quella data dagli altri sistemi d'illuminazione si ha che:

100 candele producono in un'ora:

		Produzione di vapore acqueo
Gas, lampada Siemens	Kg.	0.304
Gas, becco Argand	»	0.694
Petrolio, becco piccolo, piatto, 3 ore	»	0.653
Id. id. id. 8 ore	»	0.762
Id. becco grande, rotondo, 3 ore	»	0.218
Id. id. id. 8 ore	»	0.254
Paraffina	»	0.911
Stearina	»	0.936
Sevo	»	0.941
Acetilene	»	0.203

Dal quale raffronto si deduce che il gas acetilene produce una quantità di vapore acqueo inferiore a quella di qualsiasi altro sistema d'illuminazione.

Mi resterebbe a trattare dell'inquinamento dell'aria dovuto ai prodotti della combustione incompleta; di ciò mi astengo, poichè nelle mie ricerche tutte le determinazioni eseguite al riguardo (ammoniaca - sostanze organiche - acido nitroso - idrogeno solforato) sono state sempre negative.

Dopo un esperimento di sei ore continue d'illuminazione, mi accorsi che la soluzione di cloruro di palladio s'era annerita. Questo fatto richiamò la mia attenzione, poichè, a prima vista, mi fece supporre che fosse dovuto all'azione dell'ossido di carbonio. Ma l'abbondante colorazione della soluzione e l'eccessiva precipitazione del palladio metallico mi generarono dei dubbii e mi fecero sospettare che tale fatto fosse dovuto a qualche fuga di acetilene. Per accertarmene posi in comunicazione con la bottiglia di lavaggio contenente il cloruro di palladio, il generatore dell'acetilene, e mediante un aspiratore ne regolai il passaggio.

Fin dalla prima bollicina d'acetilene che gorgogliò attraverso la detta soluzione di palladio questa acquistò intenso colorito nero, per cui mi convinsi che il primitivo deposito osservato era dovuto all'azione dell'acetilene sul cloruro di palladio.

Da quanto è accennato innanzi chiaramente risulta che l'aria di un ambiente, illuminato artificialmente, può essere corrotta con tutti i citati prodotti, e che quel senso di malessere che si prova stando in tali ambienti chiusi è dovuto ad un insieme di cause, e non ad una causa sola.

V. *Pericolo d'esplosione e d'incendio.* — L'igienista oltre alla qualità della luce e alle alterazioni dell'aria, si deve anche occupare del pericolo d'incendio e d'esplosione d'una sostanza illuminante, poichè essi arrecano maggiori danni che una più o meno limitata alterazione dell'aria.

Con le candele, con l'olio, con la luce elettrica, non vi è pericolo di esplosione. Il petrolio è una materia esplosiva, qualora i suoi vapori, misti ad una quantità d'aria s'infiammino: da qui i pericoli che accompagnano questi materiali nel consumo per l'illuminazione.

Questo pericolo però si evita completamente mercè il controllo che si esercita sul potere di infiammabilità del petrolio prima della vendita.

Le esplosioni dovute al gas illuminante, dipendono dalle discontinuità delle condotture, da cattiva chiusura delle valvole e da altre ragioni, che permettono la fuoriuscita del gas e la miscela di esso con l'aria delle stanze. L'esplosione si avvera quando il gas raggiunge una certa proporzione, e nell'ambiente si entri con un lume, o vi si accenda un fiammifero. Il caratteristico odore del gas ci previene spesso di questo pericolo, giacchè una miscela del due per cento viene già riconosciuta dall'olfatto, mentre l'esplosione non avviene che quando la miscela raggiunge almeno il dieci per cento.

L'esplosioni dovute all'acetilene si possono avere per le miscele determinantisi negli ambienti con l'aria atmosferica, o per fughe o per inavvedutezza di persone, quando queste cioè inconsciamente vi entrano con una fiamma, o si avvicinano con essa alle giunture delle condotture o al gassometro in funzione. Infatti, sperimentalmente si è dimostrato che l'acetilene forma con l'ossigeno o con l'aria dei miscugli esplosivi, dotati di molta forza esplosiva.

Mescolando l'acetilene con un volume uguale di aria può bruciare e non è esplosivo; aumentando la quantità d'aria in modo che essa sia un quarto rispetto al volume dell'acetilene, è leggermente esplosivo. Con 12 volumi d'aria s'ha la massima esplosività. Secondo Lupke la forza d'esplosione ascende in questo caso a 12. 71 atmosfere, pari ad un carico di 13 kg. per centimetro quadrato.

Aumentando ancora la quantità d'aria, diminuisce la sua esplosività, fino ad essere nulla quando con un volume d'acetilene ne sono misti 20 di aria.

Di questo fatto bisogna tener conto quando si vogliano bruciare per l'illuminazione mescolanze di acetilene ed aria.

Con l'ossigeno si possono avere miscugli ancora più esplosivi. Unendo un volume di acetilene con due volumi e mezzo di ossigeno, si ha la massima esplosività. Nella repentina reazione succede l'immediata ossidazione del carbonio e dell'idrogeno in anidride carbonica e vapore acqueo. Lupke calcola la pressione che si svolge in questa esplosione a 41. 9 atmosfere, pari ad un carico di 43 kg. per centimetro quadrato (1).

Nell'uso pratico è molto più difficile avere un miscuglio esplosivo con l'acetilene che con il gas illuminante comune, poichè tali miscugli possono facilmente evitarsi.

È noto il suo forte odore, che lo fa riconoscere immediatamente, svelandone la minima fuga, ed è appunto in grazia a ciò che noi possiamo rintracciare i guasti dei tubi, ed evitare così la formazione della miscela esplosiva con l'aria dell'ambiente in cui si spande.

È necessario, quando si mette in funzione un impianto per la prima volta, o dopo un lungo riposo, espellere tutta l'aria contenuta nell'apparecchio e nella condottura.

Per raggiungere tale scopo si farà produrre tanto gas da riempire per i 3 quarti la campana, e dopo si farà uscire questo gas, senza accenderlo, all'aperto. Ripetuta questa operazione per due volte si potranno accendere i beccucci senza pericolo.

Allorchè dall'odore s'è avvertito che qualche fuga vi è nei rubinetti o nei generatori, si deve avere l'accortezza di non avvicinarsi mai all'apparecchio od alla conduttura con una fiamma, ma si cercherà la fuga bagnando il punto ove si suppone sia avvenuto il guasto con acqua fortemente saponata. In caso di rottura si formerà una bolla.

È prudente che gli apparecchi siano situati in locali bene aerati, e che in essi non vi sieno fiamme, o almeno che queste si trovino all'esterno dell'ambiente, dal quale saranno isolate da un vetro messo a mastice sopra un telaio fissato alla parete.

Attenendosi a queste cautele, le esplosioni diventano non diffi-

---

(1) Elektrochem. Zeitschrift, 1895, pag. 448.

cili, ma impossibili, ed anche da questo punto di vista, si ha una maggiore sicurezza rispetto al gas ordinario, al gas carburato ed al gas d'acqua.

VI. *Prezzo.* — Nel trattare la questione economica dell'illuminazione ad acetilene, terrò presente il consumo orario e l'intensità luminosa, per la qual cosa prendendo come unità di luce la carcel-ora, cercherò di stabilire il prezzo dei diversi mezzi d'illuminazione. attualmente in uso:

Consumo per carcel-ora.

Acetilene:		
Becco ordinario	Litri	7.5
Becco a incandescenza	»	3.0
Gas di carbone:		
Becco a farfalla	Litri	140.0
Becco Auer n. 1	»	23.0
Petrolio:		
Becco ordinario	Gram.	30.0
Becco a incandescenza	»	18.0
Elettricità:		
Lampada ad incandescenza	Ettowatt	0.30
Olio vegetale:		
Lampada a moderatore	Gram.	45.0

Il prezzo della carcel-ora dipende dal prezzo di vendita della unità:

1° Olio vegetale:

Calcolando il prezzo medio di questo a lire 1.40 il kg., la carcel-ora viene a costare lire 0.063, cui si può aggiungere lire 0.05 per spese accessorie.

2° L'energia elettrica per illuminazione, sia con lampade ad incandescenza che con lampade ad arco è venduta al prezzo (Roma) di centesimi 7 per ettowattora.

Da questo prezzo dell'ettowattora si deduce che il costo della carcel-ora è di 0.021 per l'incandescenza e 0.0024 per l'arco.

3° Per il petrolio di buona qualità, della densità di 800, il prezzo al litro è di lire 0.70 (Roma). dal quale ricaviamo il costo della carcel-ora:

Becco ordinario	L.	0.0262
Becco a incandescenza	»	0.0157

4° Il prezzo del gas di carbon fossile al metro cubo è di lire 0.23 (Roma); la carcel-ora costa con:

Becco a farfalla	L.	0.032
Auer n. 1	»	0.0053

5° Per l'acetilene il prezzo della carcel-ora varia a seconda del prezzo del carburo.

M. Hubon calcolando il prezzo del carburo di calce a lire 440 la tonnellata, stabilì il costo dell'acetilene per mc. in lire 1.80 (tutto compreso), e quello della carcel-ora in lire 0.0175. Stante la sensibile diminuzione subìta dal carburo di calcio in questi ultimi anni (lire 33-35 al quintale) anche il costo del metro cubo e della carcel-ora è diminuito, e propriamente:

Costo del carburo di calcio — Lire	Prezzo del metro cubo dell'acetilene — Lire	Prezzo della carcel-ora — Lire
35	1.43	0.0107
33	1.34	0.01005

Riassumendo si ha:

Costo della carcel-ora.

Olio vegetale	L.	0.063
Elettricità: incandescenza	»	0.021
Id. arco	»	0.002
Gas carbone: becco farfalla	»	0.032
Id. becco Auer n. 1. . . .	»	0.0053
Petrolio: becco ordinario.	»	0.0262
Id. becco incandescenza	»	0.0157
Acetilene (mc. lire 1.43)	»	0.0107
Id. (mc. lire 1.34)	»	0.01005

Dalle cifre precedenti risulta che la fiamma ad acetilene, economicamente, è vinta solamente dal gas ordinario bruciato nel becco Auer e dall'arco voltaico. Però bisogna notare che il potere illuminante sferico iniziale di 36 candele dei becchi Auer, si riduce dopo 800 ore d'utilizzazione della reticella ad 11 candele, e dopo 1500 ore a 7 candele. Ammettendo una utilizzazione della reticella di 800 ore, perchè a tale limite il potere illuminante è molto basso

per i bisogni ordinari, e che quindi, dopo tale tempo essa debba rinnovarsi, si ha che per manutenzione bisogna aggiungere lire 0.02 per carcel-ora. (A tali risultati è venuto l'ingegnere Lanino dopo una lunga serie di misurazioni eseguite su oltre 100 becchi Auer).

Ma questa superiorità scompare quando invece di paragonare l'illuminazione del gas ordinario ad incandescenza, con l'illuminazione ad acetilene bruciato all'aria libera, si paragona all'acetilene bruciato con manicotto ad incandescenza. Infatti s'è sperimentato che l'acetilene bruciato in becchi ad incandescenza, dà la carcel-ora non più con litri 7. 5, ma con litri 3 all'ora. In queste condizioni s'avrà l'equivalente del becco Auer n. 1 con 11 litri d'acetilene, che con il gas a lire 1. 34 il metro cubo dà il costo della carcel-ora in lire 0. 00147, prezzo di molto inferiore a quello ottenuto con il gas ordinario bruciato nei becchi Auer.

Se oltre a tutto quello accennato si considera che nello stabilire la convenienza d'un sistema d'illuminazione, occorre tener conto delle spese così dette fisse e di esercizio (impianto, personale, ecc.), che sono minime per l'acetilene, senz'altro si può stabilire che l'iluminazione ad acetilene è la più economica.

Alle norme innanzi riferite cui bisogna attenersi nell'usare l'acetilene come gas illuminante, credo indispensabile aggiungere qualche altra considerazione per evitare taluni inconvenienti, che comunemente si attribuiscono al gas, e valgono a diminuirne la diffusione.

Bisogna assolntamente evitare che nel generatore vi sia un'elevazione di temperatura superiore a 50° C., poichè se la temperatura interna dei gassogeni è molto elevata, nell'idrato di calcio, che residua, si nota una grande quantità di sostanza gialla, densa, pastosa, ed il gas che si sviluppa ha un potere illuminante inferiore alla norma; è inquinato di benzina, e produce la fiamma fuliginosa. Inoltre parte dell'acqua contenuta nell'apparecchio s'evapora, ed è subito trascinata con l'acetilene, producendo una superproduzione inevitabile di esso, cosa che si rileva dal fatto che continua lo sviluppo del gas anche quando sia cessato lo scolo o il contatto dell'acqua con il carburo. Questo si spiega considerando:

a) che i vapori primitivamente formati, venendo in contatto con pezzi di carburo non attaccati dall'acqua, incominciano ad attaccarli essi;

b) che l'acqua di condensazione aderente meccanicamente allo strato esterno dell'idrato di calcio, già formatosi attorno ai pezzetti di carburo, in prosieguo agisce per suo conto, scomponendoli fino al

centro della loro massa. Perciò si devono evitare le sopraelevazioni di temperatura (50° C) nei gassogeni, cosa che si ottiene scegliendo un buon gazometro, per cui il carburo sia in un eccesso d'acqua, e si scomponga in quantità strettamente necessaria, corrispondente alla quantità dell'acetilene che bisogna consumare.

È infine consigliabile che il gas all'uscita dei generatori, sia convenientemente lavato e depurato di tutte quelle impurità, che possono essergli state date da carburi di pessima qualità.

Conclusioni.

L'illuminazione con acetilene rispetto agli altri sistemi d'illuminazione, offre i seguenti vantaggi:

1. Dà luce bianca, fissa, ricca di raggi violetti che più si avvicina a quella dell'arco voltaico e perciò riesce più omogenea all'occhio.

2. Consuma l'ossigeno dell'aria dell'ambiente in proporzioni inferiori a quelle degli altri sistemi d'illuminazione, ad eccezione della luce elettrica.

3. Produce acido carbonico e vapore acqueo in minor quantità che le altre sorgenti luminose, eccettuata la luce elettrica.

4. Produce minor calore nell'ambiente in confronto al gas di carbon fossile, al petrolio, alle candele, ecc.

5. Non produce ammoniaca, acido nitroso, idrogeno solforato, ossido di carbonio.

6. Ha gli stessi pericoli di esplosione del gas ordinario e del petrolio.

7. Offre minore spesa in confronto al gas carbone, al petrolio, all'olio vegetale, alla luce elettrica.

8. Non richiede speciali lavori per l'impianto, potendosi un gazometro situare in qualsiasi ambiente (preferibilmente aperto).

9. Non richiede un personale tecnico per la produzione; e le spese d'impianto sono minime rispetto a quelle che si richiedono per il gas ordinario (0. 50-1 per metro cubo di gas prodotto); e per la luce elettrica (0. 75-1. 50 per chilowattora di potenzialità).

10. Sono quasi nulle le spese di manutenzione degli apparecchi e delle lampade; mentre sono rilevanti per il gas e per la luce elettrica, e si ha il 30 per cento di meno nella spesa delle condutture in confronto al gas ordinario.

Istituto d'Igiene della R. Università di Roma

Azione delle acque di varia composizione sui materiali dei serbatoi in uso per contenerle e distribuirle

per il Dott. **ACHILLE CARNEVALI.**

Per la distribuzione delle acque potabili, l'ideale sarebbe di poter adottare sempre il sistema a tipo ascendente; ma necessità richiedono che si adotti anche quello a tipo discendente. per cui si è costretti spesso ad usare serbatoi che possono alterare le acque e renderle anche poco proprie all'alimentazione umana.

La scelta quindi del materiale pei serbatoi è argomento di grandissimo interesse, quanto quello che riguarda la scelta del materiale per le condutture.

Coll'avvicendarsi delle applicazioni più razionali all'industria speciale e modesta dei serbatoi, si è giunti oggi dalle vasche di legno, di creta, di terra cotta, di legno foderato, a quelle di lamiera di ferro, di piombo, di ferro galvanizzato, di cemento, ecc.; però non si è giunti al tempo istesso a stabilire con criterii esatti quale sia il materiale preferibile pei serbatoi domestici delle acque, fatta eccezione pel piombo, per cui la questione pare risolta sfavorevolmente.

I trattati d' ingegneria sanitaria considerano l'argomento più specialmente nel rapporto tecnico ed economico, ed i lavori sperimentali su quest'oggetto sono pochi.

Rocques (1) dice che i metalli in genere, e specialmente lo zinco, il piombo ed il rame, sono attaccati lentissimamente dall'acqua comune e dalle soluzioni saline in genere (bicarbonato, cloruri); che quest'azione è più forte se si è in presenza di parecchi metalli, perchè all'azione chimica si aggiunge in questo caso l'azione elettrica.

---

(1) Revue d'hygiène, etc., 1880, pag. 656.

La presenza di materie organiche azotate e di ammoniaca accelerano la reazione, principalmente nel caso dello zinco.

I fenomeni raggiungono il loro massimo d'intensità colla presenza d'ossigeno.

Linhart (1) ha rilevato gli inconvenienti che risultano dall'uso di casse di ferro a pareti nude, ed ha suggerito il rimedio di intonacare con cemento le pareti interne delle casse.

Sestini (2), medico della nostra marina militare, ha studiato molto accuratamente l'azione delle varie acque potabili sui recipienti che servono per contenerle e conservarle a bordo delle navi. E cioè recipienti di ferro nudo o protetto con latte di calce, ed ha osservato che coteste acque nei recipienti di ferro nudo subiscono una diminuzione di durezza; che inoltre esse attaccano il metallo sciogliendone piccola porzione, la quale poi precipita come ossido di ferro e carbonato insieme alla calce ed alla magnesia dell'acqua, mettendo in libertà l'acido carbonico semicombinato o disciolto nell'acqua stessa.

Oltre a ciò Sestini ha voluto studiare il modo di comportarsi delle acque nei recipienti di ferro zincato, ed ha osservato che esse, dopo un certo tempo, subiscono un lieve aumento della durezza, e dopo sette giorni contengono zinco e ferro.

Ha studiato inoltre l'azione dell'acqua su di una cassetta rivestita internamente di latte di calce denso, e dopo sei giorni circa ha notato un aumento considerevole della durezza ed una reazione marcatamente alcalina.

Anche con tale rivestimento il ferro veniva attaccato e precipitava insieme al carbonato di calce.

Ha Concluso quindi, per questa parte dei suoi esperimenti, che « i recipienti di ferro zincato, pur avendo anch'essi un periodo di non uso, nel quale conviene tenerli pieni di acqua per portar via tutto lo zinco solubile, rappresentano un progresso sugli altri sistemi di conservazione del ferro contro la ruggine ».

Ma la parte più interessante del lavoro del Sestini è quella che riguarda lo studio delle acque potabili in cassette di lamiera di ferro rivestite di tre strati di cemento. Le acque poste in queste condizioni subiscono, secondo l'A., modificazioni profonde nella loro composizione chimica, aumentando la durezza ed assumendo reazione alcalina.

Conclude che « pur essendo transitorie queste modificazioni, l'acqua conservata in sì fatti recipienti non deve usarsi se non quando resti inalterata ».

Hundeshagen (3) ha fatto viaggiare un'acqua che aveva una durezza temporanea di 11 gradi, chiusa in un recipiente di zinco, riempito per tre quarti.

All'arrivo essa aveva una durezza temporanea di 4 o 5 gradi, e dopo due giorni una durezza inferiore ai due gradi. L'acqua aveva reazione alcalina, era chiara e nel recipiente si era deposta una crosta di carbonati che contenevano considerevoli quantità di ossido di zinco, ma nell'acqua non si trovò zinco affatto.

---

(1) VI Intern. Congress. für Hygiene, etc. Wien, 1887.
(2) Annali di Medicina Navale. Anno VI, fasc. VIII-IX.
(3) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel, 1899, pag. 305.

Davies E. (1) ha osservato che in varii campioni di acque *purissime* si trovavano, oltre traccie di nitrati, grandi quantità di ammoniaca. Egli ha supposto che in quelle acque vi fosse una sostanza riducente, ed infatti in un campione ha trovato 1,7 gr. di Zn in 100,000. Quest'acqua scorreva in tubi di ferro galvanizzato e conteneva:

	prima	dopo
Azoto, come nitrati	3,0	2,4
Ammoniaca	0,01	0,26

Perciò l'A. ha voluto studiare l'azione dell'acqua sullo zinco in condizioni sperimentali diverse, ed ha visto che ogni acqua scioglie più o meno grandi quantità di zinco; che una piccola durezza favorisce la soluzione, e che una grande durezza al contrario ne la impedisce.

Coll'intento di portare il mio contributo allo studio di questo argomento, valendomi della favorevole occasione di poter fruire di parecchie acque (varie per la composizione chimica) di cui è provvista Roma, io ho istituito una serie di esperienze per stabilire il modo di comportarsi di acque diverse in recipienti di zinco, di ferro zincato e di cemento. Ho limitato lo studio a queste tre specie di materiali per serbatoi, perchè ormai esse sole si contendono il primato nel campo tecnico, igienico ed economico. Mi è parso inutile studiare il comportamento delle acque rispetto a questi materiali, verniciati, o rivestiti di calce, perchè è presumibile che in queste condizioni le acque subiscano più o meno rapide ed essenziali alterazioni facili a comprendersi e che ne fanno proscrivere l'uso.

I. — *Modo di comportarsi dello zinco e del ferro zincato nelle acque.*

Il 23 marzo 1901 misi in una vasca di vetro, contenente 2 litri di acqua Marcia (28 gr. di durezza) due lamine di zinco (1 cmq. per 2 mm.), ed in un'altra vasca uguale, contenente la stessa acqua in uguale quantità, misi due lamine di ferro zincato (1 cmq. per 2 mm.); ambedue le vasche furono coperte da una lastra di vetro. Nei giorni 24, 26, 29 marzo e 1° aprile, in 20 c. c. di liquido residuato dell'evaporazione di 500 c. c. dell'acqua che era stata a contatto colle lamine di zinco, coi procedimenti ordinari di analisi chimica qualitativa ricercai lo zinco, ed ebbi costantemente risultato negativo.

(1) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs und Genussmittel, 1899, pag. 825.

Operando negli stessi giorni e nello stesso modo sull'acqua che era stata a contatto colle lamine di ferro zincato ebbi eguale risultato.

Osservando le lamine che per 8 giorni erano state immerse in acqua Marcia, notai che esse avevano completamente perduto la caratteristica lucentezza metallica e che sulle superfici delle lamine era disposta uniformemente una patina bianco-grigiastra.

Allo scopo di aumentare la superficie di contatto dello zinco e del ferro zincato coll'acqua, e di diminuire la superficie dell'acqua in contatto coll'aria, il 1° aprile 1900 misi in una bottiglia di vetro a tappo smerigliato, contenente due litri di acqua Marcia, circa 100 gr. di lamine arrotolate di zinco, ed in un'altra bottiglia contenente la stessa acqua in uguale quantità, circa 100 gr. di lamine arrotolate di ferro.

Per studiare le modificazioni che avvenivano nell'acqua posta in queste condizioni, scelsi come criterio generale la determinazione della durezza. E per questa determinazione, come per tutte le altre fatte nel corso delle mie esperienze, mi valsi del metodo Giorgis-Feliciani (da me modificato in alcuni dettagli) che descriverò brevemente:

100 c. c. di acqua si acidificano con 4 o 5 goccie di acido cloridrico, si fanno bollire per 10 minuti circa per scacciarne l'acido carbonico, si aggiungono poche goccie di soluzione 1 °/₀ di arancio di metile, e si neutralizza la maggior parte di acido prima con soluzione forte di potassa o di soda, poi con soluzione N/10.

Per avere risultati esatti è necessario che il liquido sia perfettamente neutro, e ciò si ottiene quando, versando nel liquido una goccia di alcali N/10, il liquido acquista il color giallo citrino, o quando in esso si vede una tinta gialla con tendenza, appena visibile, al violetto.

Dopo la neutralizzazione si aggiungono 5 o 10 c. c. di soluzione N/10 di idrato di sodio, si fa bollire per alcuni minuti, e si aggiungono ancora 5 o 10 c. c. di carbonato sodico N/10. Si continua a far bollire per 5 minuti ancora, si lascia raffreddare, si filtra per carta facendo cadere il filtrato nel misurino da 100 c. c. lavato prima con acqua distillata, si lava più volte becher e filtro, e si porta a volume. I 100 c. c. di liquido così ottenuti si versano in un bicchiere cilindrico, e si titolano con HCl N/10. Dal numero complessivo di c. c., corrispondente alla somma dei c. c. di alcali caustico e di alcali carbonato agginnto, si detrae il numero di c. c. di alcali rimasto libero nel liquido, e si ottiene così la quantità complessiva, espressa in c. c., di alcali impiegato per la precipitazione delle terre. Il numero così ottenuto, moltiplicato per 5, dà la durezza dell'acqua in gradi francesi.

I risultati delle *determinazioni della durezza dell'acqua Marcia* (messa nelle condizioni cui ho accennato prima) sono riferiti in questa tabella:

TABELLA I.

ACQUA MARCIA	1° aprile	6 aprile	10 aprile	14 aprile	16 aprile	19 aprile	23 aprile	26 aprile	29 aprile
In bottiglia contenente 100 gr. di lamine arrotolate di zinco.	28. 25	28. 00	27. 25	27. 00	26. 25	21. 50	21. 00	25. 75	22. 25
In bottiglia contenente 100 gr. di lamine arrotolate di ferro zincato. . . .	28. 25	28. 25	27. 50	27. 00	26. 50	21. 00	19. 50	17. 75	15. 25

Sulle pareti interne delle bottiglie dopo tolte le lamine metalliche, era rimasto aderente un leggiero deposito che prima lavai più volte con acqua distillata, poi sciolsi con acido cloridrico diluito. Nelle soluzioni ottenute cercai lo zinco col procedimento solito, ed ebbi per ambedue risultato positivo. Ciò dimostra che lo zinco esercita una certa azione sull'acqua Marcia, per la quale diminuisce la durezza e si formano dei sali di zinco insolubili.

II. — *Modo di comportarsi dell'acqua distillata e di acque potabili con diverso grado di durezza nei recipienti di zinco e di ferro zincato.*

Ho voluto poi studiare *il modo di comportarsi dell'acqua distillata nei recipienti di zinco e di ferro zincato*, ed allo scopo riempii due cassette rotonde, l'una di zinco e l'altra di ferro zincato, con acqua distillata. In tempi diversi prelevai da queste cassette 500 cmc. di acqua che feci evaporare a riduzione di 25 cmc. Nel residuo cercai lo zinco, e ne potei stabilire la presenza dopo 13 giorni da quello dell'inizio dell'esperimento nell'acqua contenuta nella cassetta di zinco, e dopo 15 giorni in quella contenuta nella cassetta di ferro zincato.

Con sì fatti risultati era razionale che io mutassi nel dettaglio l'indole dell'esperimento, che lo istituissi nelle condizioni più riferibili ai fatti pratici, e che lo estendessi ad un gruppo di acque potabili varie pei loro caratteri chimici.

Scelsi dunque tre acque di Roma: la Marcia che ha ordinariamente 28 gradi fr. di durezza, la Trevi che ne ha 19. 50, la Paola che ne ha 11. 80.

Queste acque, previa determinazione della durezza, furono messe in cassette di zinco e di ferro zincato, ed a varia distanza di giorni da quello in cui era incominciato l'esperimento, coi soliti metodi fu determinata la loro durezza, e fu cercato in esse lo zinco.

Le tabelle seguenti danno i risultati delle determinazioni della durezza di queste acque:

TABELLA II.

ACQUA MARCIA	Durezza iniziale	Dopo 4 giorni	Dopo 10 giorni	Dopo 18 giorni	Dopo 25 giorni
In cassetta di zinco	28. 00	26. 50	24. 00	21. 25	17. 00
In cassetta di ferro zincato .	28. 00	24. 00	21. 25	18. 25	13. 00

TABELLA III.

ACQUA TREVI	Durezza iniziale	Dopo 5 giorni	Dopo 12 giorni	Dopo 20 giorni	Dopo 28 giorni
In cassetta di zinco	19. 50	19. 00	14. 75	11. 25	9. 00
In cassetta di ferro zincato .	19. 50	20. 00	15. 75	12. 00	10 00

TABELLA IV.

ACQUA PAOLA	Durezza iniziale	Dopo 8 giorni	Dopo 13 giorni	Dopo 18 giorni	Dopo 27 giorni
In cassetta di zinco	11. 80	10. 75	9. 25	9. 25	9. 00
In cassetta di ferro zincato .	11. 80	8. 50	9. 75	9. 00	9. 00

Dopo tre giorni le acque acquistarono in superficie un aspetto opalescente che scomparve colla filtrazione, ed il fatto apparve più evidente nell'acqua meno mineralizzata (Paola).

Le ricerche dello zinco, fatte ad epoche diverse, diedero sempre risultato negativo. Alla fine dell'esperimento non si osservò deposito polverulento nelle cassette contenenti le tre acque, ma sul fondo di esse si videro delle cristallizzazioni minutissime che davano aspetto scabro alle superfici metalliche. Queste scabrosità furono distaccate versando nelle cassette un po' d'acqua, e strofinando coi polpastrelli delle dita; si ebbe così un liquido lattiginoso che versato in matraccio di cristallo, e trattato con HCl divenne chiaro. Coi metodi soliti qualitativi fu ricercato lo zinco e si ebbe risultato positivo.

III. — *Modo di comportarsi di acque artificiali nei recipienti di zinco e di ferro zincato.*

A completare lo studio sempre diretto a stabilire il modo di comportarsi di acque varie per la loro composizione chimica nei recipienti di zinco e di ferro zincato, preparai due acque artificiali: l'una contenente solfato di calcio con una durezza di gradi fr. 47; l'altra con una durezza di gradi fr. 18.

Anche queste acque furono poste in cassette di zinco e di ferro zincato, come nell'esperienza antecedente, ed in varie epoche determinai la loro durezza.

In piccola quantità, residuo dall'evaporazione di 500 cmc. di queste acque, ricercai lo zinco, ed ebbi risultato negativo.

Le tabelle seguenti danno i risultati delle determinazioni della durezza:

TABELLA V.

ACQUA con solfato di calcio	Durezza iniziale	Dopo 5 giorni	Dopo 12 giorni	Dopo 17 giorni	Dopo 22 giorni
In cassetta di zinco	47.00	41.75	39.00	39.00	36 00
In cassetta di ferro zincato.	47 00	40.25	39.00	39.00	38.00

TABELLA VI.

ACQUA con cloruro di calcio	Durezza iniziale	Dopo 5 giorni	Dopo 12 giorni	Dopo 17 giorni	Dopo 23 giorni
In cassetta di zinco	18.00	15.75	15.25	14.75	12.50
In cassetta di ferro zincato .	18.00	15.75	15.00	14.25	12.00

In tutti gli esperimenti che ho descritti nel procedimento e nei risultati, un fatto costante richiamava la mia attenzione: la graduale diminuzione, cioè, della durezza delle varie acque messe a contatto dello zinco e del ferro zincato. Siccome il fatto avveniva in modo relativamente rapido, pensai di doverne attribuire la causa all'eliminazione facile dell'acido carbonico, ed alla conseguente trasformazione dei carbonati acidi delle terre in carbonati neutri.

Volli fare un esperimento in modo da lasciare il minor dubbio possibile.

IV. — *Modo di comportarsi delle acque nei tubi di zinco e di ferro zincato.*

Riempii due tubi (l'uno di zinco, l'altro di ferro zincato della lunghezza di circa un metro, del diametro di 10 cm. e chiudibili ermeticamente) con acqua Marcia, altri due tubi uguali con acqua Trevi, ed altri due con acqua Paola.

A varia distanza di tempo feci le stesse esperienze che avevo fatto precedentemente per le stesse acque contenute nelle cassette di zinco e di ferro zincato, ed ebbi sempre risultato negativo per ciò che riguarda la presenza dello zinco.

Le modificazioni subìte dalle acque, tenute nei tubi chiusi ermeticamente, per ciò che riguarda la loro durezza, risultano da queste tabelle:

TABELLA VII.

ACQUA MARCIA	Durezza iniziale	Dopo 7 giorni	Dopo 15 giorni	Dopo 22 giorni	Dopo un mese
In tubo di zinco.	28.25	27.75	25.25	23.00	20.50
In tubo di ferro zincato. . .	28.25	24.50	21.00	20.00	19.00

TABELLA VIII.

ACQUA TREVI	Durezza iniziale	Dopo 7 giorni	Dopo 15 giorni	Dopo 22 giorni	Dopo un mese
In tubo di zinco	19 75	19.75	15.75	13.00	9.75
In tubo di ferro zincato. . .	19.75	20 00	16.50	14.00	10.75

TABELLA IX.

ACQUA PAOLA	Durezza iniziale	Dopo 7 giorni	Dopo 15 giorni	Dopo 22 giorni	Dopo un mese
In tubo di zinco.	11.80	10.25	8.75	9 00	8.50
In tubo di ferro zincato . .	11.80	9.50	9.00	8.75	8.25

* * *

L'analisi dei risultati ottenuti colle mie esperienze induce a credere che la diminuzione costante e graduale della durezza di tutte le acque studiate, nelle varie condizioni di contatto collo zinco e col ferro zincato, sia dovuta ad un'azione comune a tutti i metalli.

Difatti questi possono dapprima combinarsi all'ossigeno e dare ossidi, che combinandosi a lor volta coll'acido carbonico libero o semicombinato delle terre, possono formare dei carbonati neutri, o più probabilmente basici, e provocare la precipitazione delle terre tenute in soluzione dall'acido carbonico.

Non si deve escludere però che si avverino altre reazioni più complicate, e che gli ioni acidi e basici non possano orientarsi e disporsi in modo diverso da quello in cui si trovavano prima. Se così non fosse, non si potrebbe spiegare l'osservata eliminazione dei sali terrosi combinati ad acidi fissi.

E che effettivamente la perdita della durezza delle acque sia comune a tutti i metalli, si rileva dall'esperimento seguente:

Il 15 agosto riempii di acqua Marcia una bottiglia contenente 100 gm. di lamine arrotolate di ferro, ed in un'altra bottiglia uguale misi la sola acqua; chiusi le due bottiglie con tappo a smeriglio, ed a varia distanza di tempo determinai la durezza dell'acqua contenuta nell'una e nell'altra bottiglia.

Eccone i risultati:

TABELLA X.

ACQUA MARCIA	Durezza iniziale	Dopo 5 giorni	Dopo 10 giorni	Dopo 18 giorni	Dopo 27 giorni
In bottiglia contenente 100 grammi di lamine di ferro .	28.00	24.50	20.75	19.50	17.00
In bottiglia.	28 00	26 50	26 00	25.25	23.75

Un altro fatto rilevato in ciascuno dei miei esperimenti è questo: tutte le acque che contengono in quantità maggiore o minore sali terrosi, non sciolgono lo zinco, ma lo attaccano formando un composto insolubile del metallo allo stato colloide (ciò che appare dall'aspetto opalescente che assumono le acque in superficie); il quale si deposita, dopo qualche tempo, nei recipienti, al cui fondo produce quelle cristallizzazioni minute di cui ho fatto cenno riferendo i risultati dell'esperimento fatto colle acque Marcia, Trevi e Paola in cassette di zinco e di ferro zincato.

V. — *Modo di comportarsi delle acque potabili nei serbatoi di sidero-cemento.*

Oltre che dello zinco e del ferro zincato, pei serbatoi di acque potabili si va diffondendo l'uso del sidero-cemento.

Questi serbatoi sono formati di cemento rafforzato da una maglia interna di ferro.

Io non posso dire se tecnicamente questi serbatoi siano da preferirsi ai metallici dal punto di vista sanitario; a me pare che non se ne possa sconsigliare l'uso, ammesso che essi offrano tutte le garanzie di solidità e di buona conservazione delle acque.

Per le variazioni che possono subire le acque di diversa composizione in questi serbatoi, istituii esperimenti analoghi ai precedenti, mettendo le varie acque in vasche di sidero-cemento e lasciandovele soggiornare un certo tempo.

Le vasche furono dapprima lavate ripetutamente, poi furono riempite e lasciate in contatto coll'acqua da sperimentare per un certo tempo, e finalmente vuotate, risciacquate e riempite nuovamente per l'esperimento.

Determinai la durezza di ciascuna acqua, e ripetei le stesse determinazioni a distanza di cinque giorni l'una dall'altra nel periodo di un mese circa, saggiando contemporaneamente la reazione delle acque, che rimase sempre neutra.

TABELLA XI.

	Durezza iniziale	Dopo 5 giorni	Dopo 10 giorni	Dopo 15 giorni	Dopo 20 giorni	Dopo 25 giorni
Acqua distillata.	—	9.00	14.50	15 00	18.50	18.50
Acqua Paola	9.50	4 00	2.50	0.75	—	—
Acqua Trevi	19.00	12.00	6.00	3.00	3.00	—
Acqua Marcia.	29.00	21.00	13 25	11.50	7.75	6.50
Acqua con solfato di calcio 2 °/₀₀	47.00	37.25	32.50	28.75	20.00	15.00
Acqua con cloruro di calcio . .	18.00	21.00	21.25	20.75	20.00	—

Dopo pochi giorni da quello in cui era incominciato l'esperimento, apparve alla superficie delle acque contenute nelle vaschette una patina bianco-grigia che poi man mano scomparve.

Come si vede dalla tabella, la durezza di tutte le acque scemò sensibilmente nei primi giorni, e con minor rapidità nei successivi: aumentò invece la durezza dell'acqua contenente cloruro di calcio, ed acquistò un grado medio di durezza l'acqua distillata.

La parete interna delle vasche rimase inalterata: non si notò distacco del cemento e comparsa di tubercoli ferruginosi che avevo osservato invece in due vaschette prima di incominciare l'esperimento, e che sostituii con altre due meglio costruite (1).

Al fondo dei recipienti osservai un leggiero deposito che raccolsi, e che identificai per carbonati neutri delle terre.

CONCLUSIONI.

1ª Tutte le acque potabili, eccettuata forse l'acqua piovana, sono incapaci di sciogliere lo zinco, anche se conservate per lungo tempo in recipienti di tale metallo o ricoperte con esso; lo attaccano però lentamente trasformandolo in carbonati basici insolubili.

2ª L'acqua distillata e forse l'acqua piovana sciolgono lo zinco dopo contatto relativamente breve.

3ª Le acque potabili, conservate in vaschette di sidero-cemento ben costruite, perdono buona parte dei sali terrosi che contengono, mantenendo integri i loro caratteri organolettici. L'acqua distillata e l'acqua contenente cloruro di calcio, al contrario, aumentano considerevolmente di durezza in tempo relativamente breve.

4ª Lo zinco, il ferro zincato ed il sidero-cemento possono servire indifferentemente come materiali per la costruzione di serbatoi per le acque potabili, perchè non vi lasciano alcun che di nocivo, pur determinandovi un'azione alterante consimile. Solo nel caso di acque leggerissime e di acque di pioggia è preferibile l'uso del cemento per impedire che esse disciolgano lo zinco che è sempre un metallo tossico.

---

(1) Debbo esprimere vivissimi ringraziamenti alla ditta Gabellini-Chieri che mi fornì gentilmente i recipienti adattati alle mie esperienze.

Laboratorio d'Igiene della R. Università di Bologna

L'esalazione polmonale delle sostanze tossiche volatili, e il valore dell'acido carbonico come indice dell' inquinamento atmosferico

Ricerche di G. SANARELLI, direttore e U. BIFFI, assistente.

Uno degli argomenti che ha richiamato sempre l'attenzione degli igienisti sino da quando l'igiene divenne una scienza sperimentale, è quello che riguarda la viziatura dell'aria negli ambienti abitati e confinati.

Dopo che Cl. Bernard ebbe dimostrato che, ponendo degli animali a respirare in un ambiente confinato, ancorchè si sostituisca l'ossigeno a misura che vien consumato e si assorba l'acido carbonico a misura che viene esalato, essi muoiono ugualmente dopo breve tempo, una grande quantità di ricercatori ha tentato ogni via per caratterizzare quella sostanza che darebbe all'aria espirata una così evidente azione tossica.

Frattanto le preoccupazioni circa la perniciosa influenza di questo prodotto tossico della combustione respiratoria negli ambienti abitati, specialmente collettivi, si sono andate sviluppando con sì largo consenso, che la ben nota determinazione della viziatura atmosferica mediante la ricerca dell'acido carbonico, dopo aver somministrato tanta materia di lavoro ad una intiera generazione di igienisti, rimane a tutt'oggi fra i più comuni e i più reputati metodi d'indagine igienica.

Anzi, i metodi relativamente facili e pratici immaginati da Pettenkofer e da tanti altri, si sono così presto volgarizzati, che ci siamo trovati, anche con l'acido carbonico, a quelle stesse esagerazioni che caratterizzavano tempo addietro i giudizi igienici sulle acque potabili, in base ad analisi sommarie e inconcludenti, ma purtuttavia stimate come decisive.

Si è finito cioè col cercare e col determinare l'acido carbonico un po' dappertutto: nelle abitazioni, nei teatri, nelle vie, nelle gallerie, nelle officine e persino nell'aria dei cimiteri...., e l'entusiasmo per queste ricerche ha talora oltrepassato siffattamente i giusti limiti, che in molti lavori, ed anche in qualche libro, esse hanno finito col perdere di vista l'antico e *relativo* significato sintomatico, attribuito loro dal Pettenkofer, acquistandone a poco a poco uno assoluto, nel senso che il valore limite fissato dal Pettenkofer per gli ambienti confinati, è divenuto per molti, anche in luoghi non confinati, un sinonimo d'insalubrità atmosferica.

Ma se noi ci facciamo un pò a studiare l'evoluzione di questo metodo dalle sue origini e vogliamo interpretarlo secondo le varie conoscenze che ci siamo venuti formando intorno alla fisio-patologia della respirazione, ci troveremo indotti a modificare assai i criterii coi quali se ne esalta correntemente il valore pratico.

Anzitutto ecco in che modo il Pettenkofer stabilì il valore dell'acido carbonico come indice dell'inquinamento atmosferico.

Partendo dal fatto che nell'atmosfera libera esso sta nella proporzione ordinaria del 0. 3 $^{0}/_{00}$, egli tenne in un ambiente chiuso un certo numero di persone, praticando da un lato, ogni 15 minuti, delle determinazioni di CO_2 nell'aria che si andava a poco a poco caricando di tutti i prodotti della combustione respiratoria, e dall'altro, avvertendo contemporaneamente con l'olfatto quando cominciava il tanfo nella stanza, ponendo attenzione al momento in cui le persone rinchiuse cominciavano a sentirvisi a disagio.

Ora egli trovò che il tanfo della stanza, insieme al malessere delle persone rinchiusevi, cominciava precisamente allorquando la quantità di acido carbonico nell'ambiente aveva raggiunto il 0. 6 $^{0}/_{00}$, ossia il doppio di quella ordinaria, stabilì quindi il 0. 6 $^{0}/_{00}$ come valore limite tollerabile e l' 1 $^{0}/_{00}$ come limite massimo, indicante già un inquinamento intollerabile dell'atmosfera.

Ma, come si rileva subito, questo metodo del Pettenkofer, per quanto ingegnoso, è ben lungi dall'andare esente da quei gravi difetti che sono inerenti a tutti i metodi empirici.

Questi valori limiti sono basati esclusivamente sopra un giudizio o sopra una percezione subbiettiva, che possono variare all'infinito e non resultano regolati dalla benchè minima norma scientifica.

Infatti, anche ammettendo che l'acido carbonico, come coefficiente delle combustioni respiratorie, possa rappresentare nell'aria un valore, o meglio un « *punto di ritrovo* » esatto e costante, altrettanto

non può affermarsi riguardo alla esalazione delle sostanze organiche volatili, vale a dire, a quelle sostanze di cui effettivamente c' interessa porre in evidenza, per via indiretta, e la presenza e la quantità.

Nella maggior parte dei manuali d'igiene si dice che la proporzione dell'acido carbonico nell'aria confinata, si eleva parallelamente al grado di inquinamento di quest'aria ed alla quantità di materia organica che essa contiene.

Ma se ciò sembra ammissibile in tesi generale, non può avere molto fondamento di verità allorquando si pretenda stabilire dei rapporti regolari e costanti fra l'eliminazione del CO_2 e quella delle sostanze organiche.

Chi ha stabilito mai questi rapporti?

Chi ha detto che le esalazione polmonale dei prodotti tossici o comunque dannosi, procede di pari passo con quella dell'acido carbonico?

Nulla sappiamo in proposito e l'osservazione empirica di tutti i giorni, ci indica per lo meno che questo rapporto non deve verificarsi sempre, perchè il tanfo, o l'odore di rinchiuso, che negli ambienti confinati ed abitati, dovrebbe caratterizzare la presenza di quelle materie organiche esalate che non conosciamo, varia di intensità e di qualità a seconda dei varii individui e di molte circostanze che possono essere rilevate facilmente e da chiunque.

Proviamoci di buon mattino ad entrare in varie camere da letto, in ciascuna delle quali, durante la notte, abbia dormito una sola persona. Noi troveremo quasi sicuramente in ciascuna di esse un *tanfo* diverso, sia rispetto alle *qualità* apprezzabili col semplice olfatto, sia riguardo alla *intensità* della percezione olfattiva.

Qualche camera avrà un'atmosfera quasi affatto priva del caratteristico odore di rinchiuso e quindi respirabile senza alcuna impressione di disgusto, mentre in qualche altra camera il tanfo sarà forse così nauseabondo e repugnante da non potersi quasi sopportare.

Ciò dimostra empiricamente, ma all'evidenza, che il grado di inquinamento dell' aria confinata è sopratutto una questione di persone.

Ma c'è di più: chi ha mai affermato che quella sostanza volatile nauseabonda la quale conferisce l'odore di tanfo all'aria confinata, rappresenti la così detta materia organica volatile tossica della combustione respiratoria o si elimini dai polmoni parallelamente a questa?

Vediamo quel che ne sappiamo noi a tutt'oggi.

La storia delle ricerche riguardanti la presenza di sostanze organiche tossiche nell'aria espirata, può dividersi in tre periodi.

Il primo comincia col lavoro del Ransome (1) il quale nel 1870 trova che l'aria espirata giornalmente dall'uomo, contiene gr. 0,2 di sostanze organiche dosabili col metodo del permanganato. Seegen e Nowack (2) e Ueffelmann (3) confermano questa scoperta, mentre dall'altro canto Pettenkofer e Voit ed Hermanns (4) la negano assolutamente.

Il secondo periodo è caratterizzato da una lunga serie di ricerche dovute a Brown-Séquard e d'Arsonval (5), i quali nel 1888 trovarono la tossicità dell'acqua di lavaggio del polmone e di quella di condensazione dell'aria espirata.

Queste ricerche sono così universalmente note che reputiamo inutile lo accennarle anche sommariamente. Ma esse non ebbero la fortuna di venir confermate da Dastre e Loy (6), Hoffmann-Wellenhof (7), Russo-Giliberti e Alessi (8), Geyer (9), Lehmann (10) e Wurtz (11), i quali negarono recisamente la presenza di qualsiasi materiale tossico nei prodotti della esalazione polmonale. Però questi due ultimi autori riescono nondimeno a confermare nell'aria espirata, o nella sua acqua di condensazione, delle tracce talora notevoli (10 mmg. per litro secondo Lehmann) di ammoniaca.

Ma nel 1889 Brown-Séquard e d'Arsonval ritornano sull'argomento con la celebre esperienza della serie di gabbie chiuse comunicanti, nelle quali ogni animale era costretto a respirare l'aria espirata dai precedenti, e dimostrano che in tali condizioni gli animali muoiono tanto più presto quanto maggiore è l'inquinamento dell'aria respirata.

Questo nuovo fatto segna il principio di un terzo periodo di ricerche molto più accurate e importanti che non le precedenti, le quali si sono venute compiendo sino a tutt'oggi.

Fra queste noi dobbiamo segnalare quelle di Merkel (12), Beu (13),

---

(1) *On the organic matter of human breath in health and disease.* Journ. of Anat. and Phys., 1870, vol. IX, p. 221.

(2) *Versuche über die Ausscheidung von gasformigen Stickstoff aus den in Körper umgesetzen Eiweissstoffen.* Pfluger's Archiv, Bd. XIX, 1879.

(3) *Luftuntersuchungen.* Arch. f. Hygiene. Bd. VIII, 1888.

(4) *Ausathmung organischer Substanzen durch den Menschen.* Archiv für Hygiene. Bd. I, 1883.

(5) Vedi: Comptes rendus hebd. de la Soc. de Biologie. Anni 1887, 1888 e 1889.

(6) *Recherches sur la toxicité de l'air expiré.* Soc de Biol., 1888, p. 91.

(7) *Enthalt die Expirationsluft ges. Mensch. ein flüchtiges Gift?* Wiener klin. Woch., 1888, n. 36.

(8) Boll. della Soc. d'Igiene di Palermo, 1888, n. 9.

(9) *Ueber den Giftgehalt der ausgeathmeten Luft.* Orvosi hetilap. Budapest, 1889, p. 36.

(10) *Ueber toxische Eigenschaften der Expirationsluft.* Sitzungsber. d. phys.-med. Gesell. zu. Würtzburg, 1889, p. 122.

(11) *Sur la présence de bases volatiles dans le sang et dans l'air expiré.* Compt. rendus, 1888, p. 213.

(12) *Neue Untersuch. über die Giftigk. der Expirationsluft.* Arch. f. Hygiene, 1892, p. 1.

(13) *Untersuch. über die Giftigkeit der Expirationsluft.* Zeitsch. f. Hyg. u. Inf., 1893, pag. 64.

Rauer (1), Lübbert-Peters (2), Billings-Weir Mitchell-Bergey (3), Ruzicka (4) e Formànek (5).

Vale la pena di passare rapidamente in rivista questi lavori.

Merkel ripete le esperienze di Brown-Séquard e d'Arsonval, impiegando dei topolini invece dei conigli, arriva a resultati analoghi e conclude che l'aria espirata dell'uomo sano e degli animali contiene una piccolissima quantità di sostanza organica solubile, forse una base tossica allo stato fluido, la quale diverrebbe innocua combinandosi con gli acidi.

Beu trova anzitutto che 3000 litri di aria da lui espirata producono 100 c. c. di acqua di condensazione contenente 5 mmg. di sostanza organica, che dànno, col reattivo di Nessler, la reazione dell'ammoniaca. Cerca di formare un sale con questa sostanza organica, facendo gorgogliare l'aria espirata attraverso una soluzione di HCl e quindi evaporandola. Come residuo ottiene una piccola quantità di sostanza d'aspetto grassoso, che emulsionata in acqua resulta innocua in un topolino bianco. Inspira lungamente in un vaso di vetro contenente un topolino, ma questi non risente alcun effetto dannoso. Ripete in seguito gli esperimenti di Brown-Séquard e d'Arsonval con la serie di animali in vasi chiusi e collegati in modo che ognuno fosse obbligato a respirare l'aria espirata dai precedenti, e ottiene, quantunque in un tempo assai più lungo, lo stesso resultato degli autori francesi: gli animali della serie che respirano l'aria più viziata, muoiono per i primi.

Malgrado ciò il Beu propende ad attribuire la morte, più all'umidità delle gabbie ed alle esalazioni cutanee ed escrementizie che non alla tossicità dell'aria respirata.

Per ultimo Beu, mediante uno speciale apparecchio, pone in comunicazione le sue vie respiratorie con un recipiente chiuso della capacità di 12 litri, facendovi delle inspirazioni e delle espirazioni, di modo che è obbligato a respirare l'aria precedentemente espirata. Per quanto si sforzi, non può durare nel penoso esperimento che minuti 2 $^{1}/_{2}$, tanto se provvede all'assorbimento del CO_2 quanto se non vi provvede, e da ciò trae il giudizio che i fenomeni di malessere che si provano respirando in ambienti confinati, debbono attribuirsi in massima parte alla mancanza di ossigeno, a mancata irradiazione di calore o ad idiosincrasie verso odori nauseanti. Ritiene insomma impossibile un avvelenamento acuto prodotto dalle sostanze organiche dell'aria espirata.

Rauer ripete con qualche piccola modificazione e con varie aggiunte le esperienze di Brown-Séquard e d'Arsonval del 1889 e conclude che la morte degli animali nei vasi comunicanti, deve attribuirsi all'acido carbonico, che le manifestazioni morbose improvvise verificantesi fra persone racchiuse

---

(1) *Untersuch. über die Giftigkeit der Expirationsluft.* Ibidem, 1893, Bd. 15, p. 57.

(2) *Ueber die Giftwirkung der Ausathmungsluft.* Pharm. Centralbl. 1894, p. 54.

(3) *The composition of expired air and its effects on anim. life.* Hygien. Rund. 1897.

(4) *Kritické a pokusné studie o otazce etc.* Rozpravy ceské Akad. 1899, vol. II, p. 9.

(5) *Ueber die Giftigkeit der Ausathmungsluft.* Arch. f. Hygiene. 1900, Bd. 38, p. 1.

in ambienti confinati, sono causate da disturbi nella regolazione del calore o da impressioni di disgusto pei cattivi odori. Nega la presenza di un veleno organico volatile nell'aria espirata e non è disposto neppure a credere alla presenza di una sostanza organica qualsiasi, parendogli che tutte le esperienze precedenti, in cui essa fu dimostrata, abbiano un comune vizio di origine, in ciò che gli sperimentatori non si sarebbero assicurati che l'aria inspirata fosse priva di sostanze organiche.

Disgraziatamente queste esperienze del Rauer non portano alcun fatto nuovo nella dibattuta questione. L'asserzione che soltanto all'acido carbonico debba imputarsi la morte degli animali nei vasi comunicanti, non autorizza affatto a negare la presenza di qualche altra sostanza irrespirabile nell'aria espirata perchè le classiche esperienze di Cl. Bernard, di P. Bert, ecc., hanno dimostrato all'evidenza che negli ambienti confinati gli animali soccombono ugualmente ancorchè si sottragga, volta per volta, l'acido carbonico esalato e si ripristini in pari tempo l'ossigeno consumato.

Lübbert e Peters, impiegando le cavie, invece dei topi, ripetono le esperienze di Brown-Séquard e di Rauer, e giungono alla conclusione che la velenosità dell'aria espirata sia dovuta soltanto all'accumulo dell'acido carbonico.

Billings, Weir Mitchell e Bergey, analizzano chimicamente l'acqua di condensazione dell'aria espirata di uomini e di animali, riescono a dimostrarvi piccole quantità di ammoniaca, ma non trovano alcun corpo che dia la reazione degli alcaloidi. Ripetono la solita esperienza di Brown-Séquard e d'Arsonval delle gabbie comunicanti e concludono che la morte degli animali avviene per mancanza di ossigeno, per accumulo di CO_2 o per entrambi questi fattori.

Ruzicka suppone che l'esperienza delle gabbie comunicanti sia stata eseguita con tecnica insufficiente, cioè che le diverse gabbie fra loro in rapporto non fossero ermeticamente chiuse, sicchè nelle ultime si sarebbe avuta una ventilazione insufficiente. Egli conclude che l'aria, anche enormemente inquinata dai prodotti della respirazione, non può mai dar luogo ad una intossicazione acuta.

Finalmente anche il Formàneck ripete le classiche esperienze di Brown-Séquard e d'Arsonval, impiegando delle cassette chiuse contenenti dei cani e delle cavie. Sottopone ad opportune investigazioni chimiche l'aria passata attraverso a queste cassette e conchiude: che la sostanza volatile ad azione tossica, di natura basica, contenuta in quest'aria è dell'*ammoniaca;* che questa non è un prodotto della esalazione polmonale, ma deriva dalla decomposizione dei secreti ed escreti, tanto è vero che osservando una più scrupolosa nettezza nelle gabbie ed impedendovi la decomposizione delle urine e delle feci, per mezzo di antisettici, la produzione di ammoniaca non si avrebbe altrimenti. La morte degli animali nelle gabbie comunicanti avverrebbe quindi per avvelenamento da ammoniaca o da acido carbonico, a seconda della maggiore o minore ventilazione delle gabbie medesime.

Ora, dall'insieme di queste ricerche aggirantisi tutte intorno al medesimo problema sollevato dalla ingegnosa esperienza di Brown-Séquard e d'Arsonval, e prescindendo da ogni veduta ipotetica come da qualsiasi valore da attribuirsi all'acido carbonico, già messo

fuori di causa da precedenti ed esaurienti osservazioni, rimane una constatazione intorno a cui non pare possibile dubitare perchè confermata da molti autori: intendiamo alludere all'ammoniaca che si sarebbe presentata in una gran parte delle esperienze nei prodotti della combustione respiratoria.

La presenza dell'ammoniaca nell'aria espirata non può essere un fatto occasionale.

La stessa circostanza che non tutti gli autori sono riusciti a ritrovarla, malgrado la estrema sensibilità della sua reazione colorimetrica, dimostra che molto probabilmente la sua eliminazione polmonale è minima. oppure non è costante e dipende da cause determinate che ci sfuggono ancora.

È utile però ricordare che fino dal 1858 il Richardson (1) aveva segnalato l'ammoniaca come un componente quasi costante dell'aria espirata.

Di dove può trarre origine l'ammoniaca dell'aria espirata?

Sino a questi ultimi anni la questione poteva sembrare difficile a risolversi, ma dopo le ricerche sperimentali effettuate da Winterberg (2) nel 1898, si sa che il sangue venoso normale contiene dell'ammoniaca preformata nella quantità media di 0. 9 mmg. per 100 cmc., che durante la febbre essa è soggetta a notevoli oscillazioni e che il suo reperto non è regolare.

L'ammoniaca dell'aria espirata non può dunque avere altra provenienza che dal sangue circolante, ed al sangue essa potrebbe arrivare attraverso le pareti intestinali come prodotto gassoso dei processi fermentativi delle sostanze azotate che hanno luogo nel tubo digestivo.

Questa ipotesi è ammissibile, anche *a priori*, perchè è noto che il canale digestivo contiene, anche normalmente, vari gas (CO_2, H, O, N, CH_4, NH_3, H_2S, ecc.) e che le pareti intestinali sono dotate di un altissimo coefficiente d'assorbimento verso i medesimi.

Infatti, se prendiamo, per esempio, l'acido carbonico, intorno al quale possediamo le nozioni le più complete, noi sappiamo dal Bunge (3) che allorquando il suo contenuto nell'intestino oltrepassa il 10 % degli altri gas, comincia la sua diffusione nel sangue, e siccome la quantità di CO_2 dei gas intestinali oscilla fra il 20 e

---

(1) *The cause of the congelation of the Blood.* London, 1858, p. 358.

(2) *Ueber den Ammoniakgehalt des Blutes gesundener u. kranker Menschen.* Zeitsch. für klin. Medicin, Bd. 36, p. 589, 1898.

(3) Lehrbuch der phys. und pathol. Chemie. Leipzig, 1887.

il 50 %, così deve avvenire continuamente un'attiva corrente di CO_2 dall'intestino al sangue, di dove viene esalato per i polmoni.

Lo stesso avviene, secondo Bunge, per l'idrogeno solforato, il quale appena divenuto libero nell'intestino, si diffonde nel sangue e si elimina per i polmoni e per le urine; lo stesso è stato osservalo da Tacke (1) per l'idrogeno e per il metano, i quali posseggono un coefficiente di assorbimento così di gran lunga inferiore a quello del CO_2 e dell'H_2S.

Nulla quindi di più naturale che anche l'ammoniaca constatata nell'aria espirata da Richardson, Lehmann, Wurtz, Beu, Billings, Weir Mitchell, Bergey e Formáneck, sia di provenienza intestinale e che, per analogia, anche gli acidi grassi volatili, i gas nauseabondi, le materie organiche, insomma quelle sostanze organiche indeterminate, oggetto di tante controversie e punto di partenza di tante esperienze così poco concordi fra loro, non sieno in fondo che dei prodotti gassosi mal definiti, di origine prevalentemente intestinale.

Parrà strano che fra tanti autori, i quali si sono così a lungo affaticati intorno a questo interessante problema dei corpi volatili nell'aria espirata, nessuno abbia supposto anche per un momento che essi avrebbero potuto avere una provenienza così semplice e naturale.

Eppure in semiologia medica è noto l'odore particolare dell'alito nei costipati e negli ipocondriaci; è volgare l'effetto di certe sostanze alimentari (aglio, cipolla, ecc.) le quali comunicano all'alito il loro odore speciale; è noto come sotto l'influenza dell'eccitazione o della collera, l'alito di diversi animali esali un odore agliaceo o muschiato; allo stato patologico si conosce l'eliminazione dell'ammoniaca in alcune forme di uremia e dell'acetone nel coma diabetico; moltissime sostanze volatili ingerite a scopo terapeutico passano nell'aria dell'espirazione, ecc.

Insomma tutto fa supporre che fra la superficie intestinale e quella polmonale, esista un rapporto costante di scambi gassosi, i quali potrebbero spiegare senza altre difficoltà l'origine di quelle sostanze che il Du Bois-Reymond definì col vago appellativo di ***antropotossine***.

È chiaro che anche ammessa la provenienza intestinale dei gas

---

(1) *Ueber die Bedeutung der brennbaren Gase im thierischen Organismus.* Inaug. Diss., Berlin, 1884.

nauseabondi o nocivi dell'esalazione polmonale, la loro natura chimica non diviene per questo meno difficile a stabilirsi esattamente.

E ciò si comprende, poichè noi sappiamo ancora ben poco circa la natura delle sostanze volatili che si producono durante gli svariati processi fermentativi dell'intestino, i quali variano a seconda della qualità del nutrimento ingerito, della flora microbica intestinale e della durata della dimora delle ingesta nel canale digestivo.

Negli studi intorno alla fisiologia della digestione, fra i gas intestinali, si è tenuto ordinariamente conto solo dell'azoto, dell'idrogeno, dell'ossigeno, del metano, dell'acido carbonico e dell'acido solfidrico; ma dal punto di vista che interessa ora noi e che riguarda la formazione dei prodotti gassosi di natura organica ad alto coefficiente di assorbimento, di odore nauseabondo e di azione tossica o nociva più o meno spiccata, le nostre nozioni non vanno al di là dei ben noti composti aromatici di natura fenolica che generalmente si ossidano nel sangue e si eliminano con l'urina sotto forma di eteri solforici.

Però noi sappiamo che gli eteri solforici aumentano nelle urine ogni qualvolta si accentuano i processi putrefattivi intestinali [Singer (1)], e in determinati stati morbosi che hanno per substrato le autointossicazioni [Freund (2)] sono stati trovati nelle feci vari prodotti di putrefazione dell'albumina (indoxyl, skatoxyl, fenolo, diamina, ecc.).

Oltre a ciò il Nencki (3) ha svelato nel contenuto intestinale, piccole quantità di una sostanza volatile che deve ritenersi fra le più nauseabonde che si conoscano: il mercaptano.

È logico quindi il ritenere che durante gli svariati e complessi processi putrefattivi dell'intestino, si producano a spese dell'albumina delle sostanze volatili che non rimangono del tutto ossidate nel sangue, ma che in parte si eliminano per i polmoni, impartendo all'aria espirata degli odori diversi e producendo negli ambienti confinati quella sensazione sgradevole, nauseabonda, che non ricorda all'olfatto alcuna sostanza di natura determinata e che si designa col nome generico di *tanfo*.

È noto a tutti lo sgradevole odore dell'aria espirata dalle per-

---

(1) *Ueber den sichtbaren Ausdruck u. d. Bekämpfung d. gest. Darmfäulniss.* Wiener klin. Woch., 1894, n. 3.

(2) *Ueber Autointoxications-Erytheme.* Wiener klin. Woch., 1894, n. 3.

(3) *Das Methylmercaptan als Bestandtheil der mensch. Darmgase.* Sitzungsber. d. Kais. Akad. in Wien., III Abt., vol. 98, p. 437.

sone dispeptiche, dalle anemiche con enteroptosi, dai così detti neurastenici d'intestino, dagli affetti da timpanite, da semplici catarri enterici, da perturbazioni dell'attività del tenue e da ogni sorta di disturbi digestivi.

Ebbene, in tutti questi stati patologici lo Schmidt (1) ha segnalato un aumento delle fermentazioni intestinali con abnorme produzione ed accumulo di vari gas, dovuti alla difettosa funzione della muscolatura intestinale e quindi alla deficente peristalsi che permette ai microbi fermentativi di agire più a lungo sulle ingesta ristagnanti.

Che infine le pareti intestinali sieno atte a riassorbire i gas, lo dimostra l'esempio della ingestione spesso copiosa ed innocua di acque carboniche, nonchè l'esperienza quotidiana che si può rattenere l'uscita dei flatus non solo in modo transitorio, ma anche durevole.

***

Premesse queste considerazioni non sarà difficile comprendere perchè noi siamo stati indotti a sollevare dei dubbi sulla importanza e sul significato del valore-limite assegnato dal Pettenkofer all'acido carbonico contenuto negli ambienti confinati.

Una volta ammesso che le sostanze organiche volatili dell'aria espirata possano avere una provenienza intestinale, è chiaro che la loro eliminazione dalla superficie polmonale dovrà stare in rapporto con la quantità prodotta volta per volta nel tubo digestivo ed assorbita in gran copia dal sangue, e non con la esalazione dell'acido carbonico, il quale obbedisce a determinate leggi che sono state già fissate esattamente e minuziosamente per tutte le età, per entrambi i sessi e in quasi tutti gli stati patologici.

Si sa infatti che ad ogni atto respiratorio l'uomo adulto espelle circa $^1/_2$ di litro di gas il quale contiene il 4 o 5 $^0/_0$ di CO_2.

E siccome i movimenti respiratori sono in numero di 16-17 per minuto, così si ritiene che in capo a 24 ore un uomo adulto elimini da 7 ad 8 mc. di aria contenente il 5 $^0/_0$ di CO_2, vale a dire presso a poco uguale a quella espirata. E poichè non è affatto verosimile che la eliminazione polmonale dei gas intestinali venga disciplinata in modo da risultare parallela a quella dell'CO_2, così il limite di tollerabilità delle sostanze organiche dell'aria espirata in un am-

(1) Wiener med. Wochenschr., 1899, n. 9.

biente confinato non potrà esser desunta da una semplice, per quanto esatta, valutazione di CO_2.

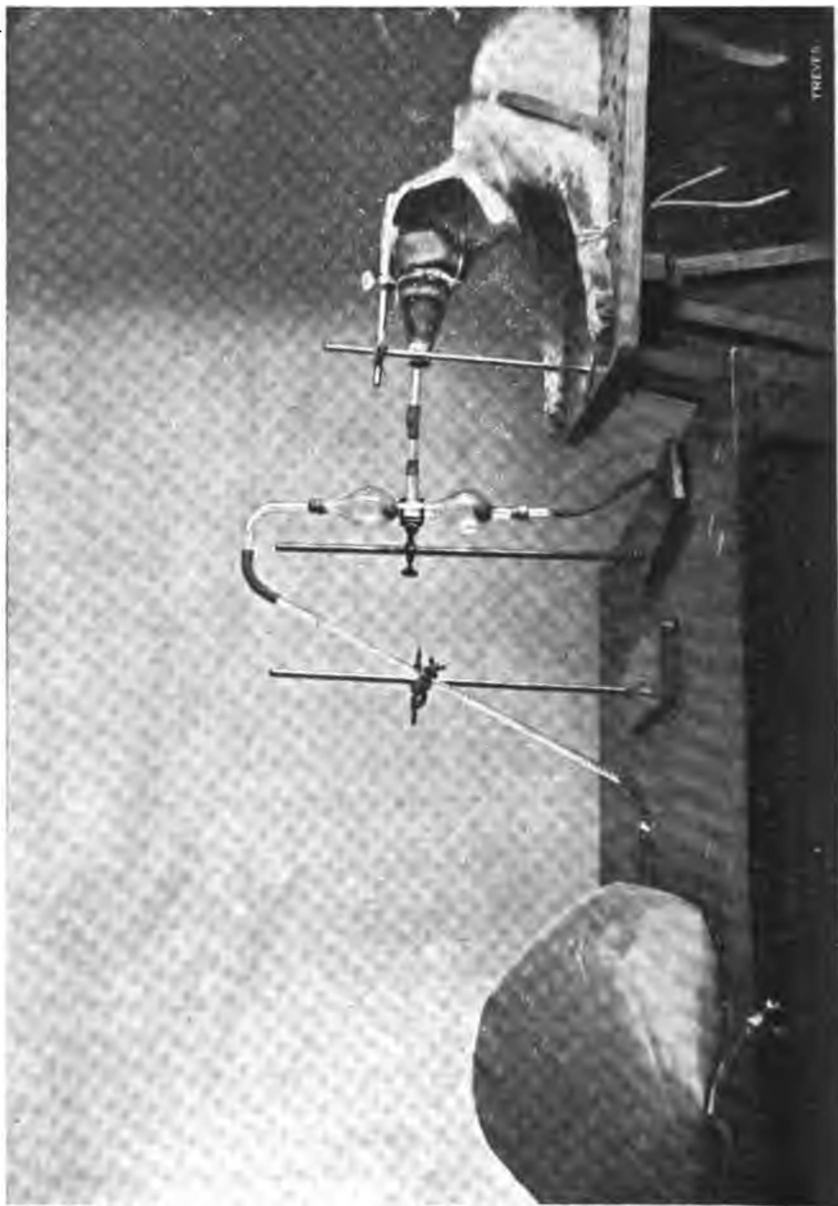


Fig. 1.

In altri termini: non parrebbe dovesse esistere alcuna ragione

plausibile per ammettere che dalla quantità di CO_2 determinata in un ambiente confinato, sia lecito dedurre rispettivamente la quantità, anche approssimativa, di materia organica volatile accumulatavi con le esalazioni polmonali.

Per decidere una questione così controversa e che noi riteniamo di fondamentale importanza per l'igiene, abbiamo intrapreso una serie di esperienze con le quali ci siamo proposti di mettere in chiaro:

1° Se le sostanze gassose o volatili che possono formarsi nell'ultima porzione dell'intestino, sono capaci di venire assorbite dal sangue e quindi eliminate per i polmoni;

2° Se la eliminazione polmonale di tali sostanze abbia un rapporto qualsiasi con la esalazione del CO_2.

Queste esperienze sono state fatte con cani, e a tal uopo noi ci siamo serviti di un apparecchio fatto costruire appositamente e che ci permetteva di raccogliere una grande quantità di aria espirata necessaria alle opportune analisi, senza che essa dovesse subire il contatto di liquidi, nei quali avesse potuto disciogliersi la benchè minima quantità delle eventuali sostanze gassose esalate.

La figura 1 qui retro annessa rappresenta l'insieme dell'apparecchio funzionante.

Il cane respira attraverso una maschera di cautchouc a tenuta perfetta: questa comunica con una valvola a due bolle, la quale permette all'animale di inspirare dell'aria pura, *addotta dal di fuori del laboratorio*, mediante l'orificio inferiore innestato a un grosso tubo di cautchouc, e di far passare l'aria espirata, per l'orificio superiore, in un pallone di finissima tela cautchouc impermeabile, di forma biconica, munito di rubinetti alle due estremità e della capacità di circa 100 litri.

Impiegando dei cani di media taglia, questo pallone viene ordinariamente riempito di aria espirata in 20-30 minuti.

Prima di ogni esperienza, si faceva riempire il pallone con l'aria espirata dall'animale su cui si doveva sperimentare, allo scopo di determinare la percentuale dell'acido carbonico in condizioni normali. Dopo ciò si iniettava nell'intestino retto dell'animale, mediante un' irrigatore, la sostanza di cui si voleva provare la eliminazione polmonale.

Poco dopo avvenuta l'iniezione rettale, si applicava al cane la maschera comunicante col pallone e vi si faceva respirare finchè questo non fosse stato completamente riempito.

Dopo praticate le analisi necessarie dell'aria raccolta nel pallone, questo veniva ogni volta vuotato e ventilato lungamente at-

traverso le due aperture, con aria pura, mediante il mantice di una soffieria.

Le sostanze delle quali venne studiata la eliminazione polmonale furono:

1° l'ammoniaca;
2° l'acido butirrico;
3° l'acetone;
4° l'acido carbonico;
5° l'idrogeno solforato.

L'impiego delle prime tre ci parve suggerito dall' interesse generale che presenta lo stabilirne in modo definitivo la eliminazione polmonale; l'impiego dell'acido carbonico e dell' idrogeno solforato venne consigliato non soltanto perchè entrambi questi gas possono essere il prodotto di fermentazioni intestinali, ma anche perchè essi si prestano ottimamente per le determinazioni comparative nell'aria espirata.

1° Ammoniaca.

Abbiamo detto più sopra, che la presenza dell'ammoniaca nell'aria espirata è stata segnalata da lungo tempo per opera di Dady e Richardson.

Da principio si suppose che questa sostanza potesse provenire dalla decomposizione delle sostanze alimentari nella cavità buccale ma Lossen (1) dimostrò che poteva ritrovarsi nell'aria della trachea e che la quantità totale di ammoniaca esalata in 24 ore dall'uomo, sarebbe di circa 1 centigrammo.

Allo stato patologico, sopratutto in certe forme di uremia (Frerichs) se ne produce talora un eliminazione così forte, da comunicare all'alito un odore ammoniacale e produrre dei vapori bianchi, quando si ponga innanzi alla bocca del malato una bacchetta intrisa nell'acido cloridrico.

D'altro canto, secondo Schottin (2) la presenza dell'ammoniaca che si verifica in un gran numero di malattie gravi, diverse dall'uremia, sarebbe sempre dovuta alla decomposizione putrida delle secrezioni buccali e dei detriti alimentari nei malati che respirano a bocca aperta e che a motivo del loro stato non possono avere alcuna cura dei loro denti e della loro cavità orale.

---

(1) *Ueber die Ausscheidung von Ammoniak durch die Lunge* (Zeitsch. f. Biologie, 1865, p. 207).
(2) Archiv für phisiolog. Heilkunde, 1853.

In quanto poi alla eliminazione polmonale dei sali ammoniacali ingeriti a scopo terapeutico, essa è stata molto contestata. Ammessa dal Rabuteau, è negata da Boehm e Lange (1) e da Schiffer (2).

Secondo Husemann (3) essa è incostante, eccezionale e dipende da condizioni mal determinate e variabili. Nei conigli non l'ha mai ritrovata, dopo l'assorbimento del cloridrato di ammonio; col carbonato ammonico, due volte su cinque esperienze, egli ha visto abbrunirsi una carta di curcuma posta innanzi alle narici.

Ma Schiffer, dopo l'iniezione endovenosa di gr. 0.02 di carbonato ammonico, non ne ha trovato durante l'ora seguente che una traccia molto dubbia nell'aria espirata.

Le nostre esperienze tendono a confermare questi resultati, inquantochè dimostrano che l'ammoniaca può eliminarsi in minime tracce coll'aria espirata anche in condizioni del tutto normali; ma oltre a ciò esse ne pongono bene in chiaro anche la provenienza intestinale.

Esperienza I (controllo). — Cane bastardo di kg. 9.

1 marzo. Vien fatto respirare a lungo (circa un'ora) sull'apparecchio, in modo che l'aria espirata attraversi un serpentino refrigerante immerso in ghiaccio fondente.

Si ottiene circa 1 c. c. di liquido di condensazione nel quale sono dimostrabili, col reattivo di Nessler, delle tenuissime traccie di NH_3.

Esperienza II (controllo). — Cane c. sopra.

2 marzo. Si lava a lungo la bocca dell'animale con acqua distillata e si ripete l'esperienza come sopra. Nel liquido di condensazione il reattivo di Nessler svela tenuissime tracce, ma nette di ammoniaca. Il liquido di condensazione ha reazione neutra ed è assolutamente inodoro.

Esperienza III (controllo). — Cane nuovo di kg. 7.500.

3 marzo. Lavaggio accurato della cavità orale con acqua distillata e raccolta del liquido di condensazione dell'aria espirata nel modo c. s. Reazione lievisssima ma indubbia col reattivo di Nessler.

Esperienza IV. — Cane c. s.

5 marzo. Iniezione rettale di 100 c. c. di una soluzione acquosa di ammoniaca al 3 %.

L'aria espirata vien fatta attraversare un refrigerante a serpentino in cui si condensa il vapor d'acqua in essa contenuto.

---

(1) Archiv für experim. Path. und Pharmak. Bd. II, p. 364.
(2) Berliner klin. Wochenschr., 1872, n. 42.
(3) *Beitraege zur Wirkung des Trimethylamins u. der Ammoniaksalze.* Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. VI, p. 55.

Le prime gocce del liquido condensato cadendo in una capsuia contenente del reattivo di Nessler, danno luogo ad anelli colorati gialli, evidentissimi, dimostranti indubbiamente la eliminazione di notevoli quantità di NH_3 per il polmone.

Il liquido di condensazione ha debole reazione alcalina.

Si continua l'esperienza per circa 30 minuti, dopo il qual tempo l'eliminazione dell'ammoniaca non è cessata tuttavia, ma è resa meno spiccata, quasi come in condizioni normali.

Esperienza V. — Cane c. s.

7 marzo. Iniezione rettale di 150 c. c. di una soluzione ammoniacale al 3 °/₀.

L'aria espirata vien fatta attraversare un apparecchio refrigerante costituito da due bottiglie a doppia tubulatura, immerse in una miscela di neve e sale, e viene raccolta nel pallone di gomma.

Durante l'espirazione dei primi 100 litri, si raccoglie circa 1 c. c. di liquido nella prima bottiglia (quella più vicina alla valvola) e circa 1/2 c. c. nella seconda.

Il liquido raccolto è inodoro, ha reazione neutra e col reattivo di Nessler dà una marcatissima reazione dell'ammoniaca.

Nei primi 100 litri di aria espirata la determinazione dell'CO_2 dà milligrammi 52.25 per litro. La determinazione fatta prima dell'esperienza aveva dato 54 mmg. per litro.

Esperienza VI. — Cane di kg. 9 dell'esperimento I.

8 marzo. Iniezione rettale di 200 c. c. di una soluzione ammoniacale al 3 °/₀.

Si raccoglie l'acqua di condensazione dell'aria espirata nel modo consueto e si saggia col reattivo di Nessler ottenendosi una marcatissima colorazione gialla.

In tal guisa rimane confermata non soltanto l'eliminazione polmonale normale di tenuissime tracce di ammoniaca, ma resulta dimostrato il suo rapido ed abbondante passaggio dal tubo intestinale nell'aria espirata.

2° Acido butirrico.

La presenza dell'acido butirrico, insieme a quella dell'indolo, dello scatolo, del fenolo, dell'acido acetico, dell'acido isobutilico e di tutta la serie degli acidi grassi, è stata messa in evidenza da gran tempo nel canale digestivo, nelle materie escrementizie e nei liquidi putridi.

Si ritiene probabile che l'acido butirrico provenga dalla trasformazione dell'acido lattico, che si formerebbe alla sua volta per azione dei fermenti sugli idrati di carbonio, il glucosio, l'amido, ecc. Esso venne ritrovato anche nel sudore, ma non ci consta che sia

stato mai ricercato nell'aria espirata, quantunque la sua qualità di prodotto volatile potesse farne supporre come assai probabile la esalazione polmonale.

Però se appare più che evidente la enorme difficoltà di sorprendere quelle minime tracce di acido butirrico che eventualmente potessero eliminarsi per i polmoni, in condizioni normali, d'altro canto è interessante conoscere se questa eliminazione avvenga, perchè dato l'odore così penetrante e caratteristico dell'acido butirrico e degli altri acidi grassi volatili delle fermentazioni intestinali, non è ingiustificato l'ammettere che la loro presenza — anche in quantità minima — nell'aria espirata, possa contribuire ad imprimere a quest'ultima sgradevoli proprietà olfattorie.

Esperienza VII. — Cane da caccia di kg. 18.

17 marzo. Iniezione rettale di 100 c. c. di una soluzione acquosa al 10 °/₀ di acido butirrico.

Si raccoglie l'acqua di condensazione dell'aria espirata, attraverso un serpentino e si ottengono circa 3 c. c. di liquido, che odora lievemente, ma distintamente di acido butirrico.

Trattando questi 2 c. c. con H_2SO_4 ed alcool si avverte un distinto odore di butirrato di etile.

Esperienza VIII. — Cane nocciuola di kg. 12.

22 marzo. Iniezione rettale di 100 c. c. di una soluzione acquosa al 10 °/₀ di acido butirrico.

Dall'aria espirata nella prima ora dopo l'iniezione si ottengono circa 2 c. c. di acqua di condensazione, che manifesta il solito odore di acido butirrico e che trattata, come la precedente, con H_2SO_4 e alcool sviluppa un odore ben marcato di butirrato d'etile.

Resulta quindi che anche l'acido butirrico può assorbirsi dal contenuto intestinale, ed eliminarsi direttamente per la superficie polmonale.

3° Acetone.

È noto che l'alito di certi ammalati, specialmente quello dei diabetici in imminenza di coma, può esalare un odore di acetone (Kussmaul, ecc.).

Di recente esso è stato segnalato anche nell'aria espirata di soggetti con affezioni del canale digestivo, nelle autointossicazioni e nei casi di grande distruzione di sostanze albuminoidi.

Si trovano allora anche nelle urine, sia l'acetone, sieno delle sostanze capaci di formarlo, come per es., l'acido aceto-acetico.

Nel caso nostro la prova dell'acetone venne anche eseguita allo scopo di dimostrare la rapida eliminazione polmonale di una sostanza organica volatile qualunque, iniettata nell'intestino.

ESPERIENZA IX. — Cane di kg. 16.

16 marzo. Iniezione rettale di 100 cmc. di una soluzione di acetone al 10 per cento.

Si fa passare l'aria espirata attraverso un serpentino refrigerante.

Le prime gocce di vapore acquoso condensato, contengono già tracce evidentissime di acetone (metodo di Lieben, reazione dell'iodoformio).

Durante tutta l'esperienza (circa 2 ore e 30 minuti) l'eliminazione dell'acetone continua. Dopo questo tempo l'esperimento viene interrotto.

ESPERIENZA X. — Cane bastardo di kg. 10.

21 marzo. Iniezione rettale di 50 cmc. di una soluzione d'acetone al 10 per cento.

Si raccoglie per un'ora il vapore acquoso dell'aria espirata, sotto un serpentino refrigerante e si sottopone alla reazione di Legal, alcalinizzando il liquido con soda, aggiungendo quindi alcune gocce di una soluzione di nitro-prussiato di sodio. Si ottiene una reazione rossa che vira al porpora per l'aggiunta di qualche goccia di acido acetico. La reazione dell'acetone è evidente.

Possiamo quindi concludere che anche l'acetone passa dall' intestino nell'aria espirata.

4° Acido carbonico.

È nozione corrente che l'CO_2 esalato per i polmoni, non sia altro che un prodotto costante delle trasformazioni chimiche che si effettuano nei tessuti dell'organismo animale.

Per conseguenza lo studio delle sue variazioni fisiologiche e patologiche è stato messo sempre in rapporto, insieme all'urea, con la intensità delle combustioni organiche.

Ma è noto altresì che l'acido carbonico si sviluppa in grande quantità anche nel canale digestivo, per la neutralizzazione del chimo acido col carbonato sodico del succo intestinale.

Se è permesso di riferire all'uomo la quantità diaria di acido cloridrico, per unità di peso, secreto col succo gastrico e trovata da C. Schmidt nei cani, si può calcolare che giornalmente per la neutralizzazione dell'acido cloridrico, si sviluppano nel nostro intestino 6 litri di acido carbonico.

A questa va ancora aggiunta una quantità fors'anche maggiore, che si sviluppa per la neutralizzazione degli acidi butirrico e lat-

tico, che costantemente si formano nell'intestino dagli idrati di carbonio dell'alimentazione.

È noto infatti che le fermentazioni dell'intestino cieco si traducono quasi esclusivamente con la produzione di una grande quantità di CO_2 che rappresenta il 97-98 per cento degli altri gas (1).

Noi però non siamo per nulla incomodati da questi grandi volumi di acido carbonico, poichè il suo coefficiente di assorbimento è molto più alto, e la pressione parziale dell'acido carbonico nei tessuti della parete intestinale non è mai superiore al 10 per cento circa di un'atmosfera.

Perciò, come abbiamo visto più sopra, non appena il contenuto di CO_2 dei gas intestinali va sopra il 10 per cento, deve cominciarne la diffusione nel sangue.

La quantità d'acido carbonico dei gas intestinali oscilla fra il 20 ed il 50 per cento e più. Deve dunque avvenire continuamente un'attiva corrente d'acido carbonico dall'intestino al sangue e, anche secondo Bunge, l'acido carbonico sviluppatosi nell'intestino, viene esalato dai polmoni.

Questa esalazione polmonale dell'acido carbonico di origine intestinale deve supporsi tutt'altro che indifferente ma, come si capisce, la sua esatta determinazione sfugge a qualsiasi metodo d'indagine diretta, e d'altra parte essa sarebbe di ben poca importanza.

Nelle nostre esperienze, ispirate più che altro a dimostrare la effettiva e diretta eliminazione polmonale dell'acido carbonico intestinale, abbiamo girato ogni difficoltà, introducendolo artificialmente per la via del retto, sia allo stato gassoso, sia sotto forma di acqua carbonica, determinando l'acido carbonico dell'aria espirata, prima e dopo l'iniezione, e tenendo conto delle differenze.

ESPERIENZA XI. — Cane bastardo di kg. 13.

26 febbraio. Analisi dell'aria espirata, prima dell'esperienza: mmg. 32.2 di CO_2 per litro.

Si iniettano nel retto circa 300 cmc. di acqua di seltz e dopo 2-3 minuti si comincia a raccogliere l'aria espirata nel pallone, sino a completo riempimento.

Analisi dell'aria espirata: mmg. 54.7 di CO_2.

Aumento di CO_2 eliminato dopo l'iniezione rettale: mmg. 22.5 per litro.

(1) DUCLAUX. *Chimie biologique*. Encicl. di Fremy, 1883, p. 799.

ESPERIENZA XII. — Lo stesso cane.

27 febbraio, 10 ant.

Analisi dell'aria espirata prima dell'esperienza: mmg. 34 di CO_2 per litro.

Si iniettano nel retto 200 cmc. di acqua di seltz e dopo 3 minuti si comincia a raccogliere l'aria espirata.

Analisi dell'aria espirata nei primi 100 litri: mmg. 40.2 di CO_2 per litro.

Analisi dell'aria espirata nei 100 litri successivi: mmg. 35.5 di CO_2 per litro.

Aumento di CO_2 eliminato rispettivamente nei primi 100 + 100 litri di aria espirata dopo l'iniezione rettale; mmg. 6 2 e mmg. 1.7 per litro.

ESPERIENZA XIII. — Lo stesso cane.

27 febbraio, ore 3 pom.

Analisi dell'aria espirata prima dell'esperienza: mmg. 32.8 di CO_2 per litro.

Si iniettano nel retto circa 300 cmc. di acqua di seltz e dopo tre minuti si raccolgono circa 20 litri di aria espirata.

Risultato dell'analisi: mmg. 42.2 di CO_2 per litro.

Si raccolgono altri 20 litri consecutivi di aria espirata.

Risultato dell'analisi: mmg. 41.9 di CO_2 per litro.

Si raccolgono altri 40 litri consecutivi di aria espirata.

Risultato dell'analisi: mmg. 39.95 di CO_2 per litro.

Aumento dell'CO_2 eliminato rispettivamente nei primi 20 + 20 + 40 litri d'aria espirata dopo l'iniezione rettale: mmg. 9.4 — 9.1 — 7.15 per litro.

ESPERIENZA XIV. — Cane rosso di kg. 16.

2 marzo.

Analisi dell'aria espirata prima dell'esperienza: mmg. 41.2 di CO_2 per litro.

Si iniettano circa 600 cmc. di gas CO_2 nel retto.

Analisi dei primi 50 litri di aria espirata a cominciare da 5 minuti dopo l'iniezione del gas: mmg. 54.75 di CO_2 per litro.

Analisi dei 50 litri successivi: mmg. 55.2 di CO_2 per litro,

Aumento dell'CO_2 eliminato rispettivamente nei primi 50 + 50 litri di aria espirata dopo l'iniezione rettale: mmg. 13.55 — 14.0 per litro.

Dall'insieme di questi risultati appare dunque chiaramente che l'acido carbonico si assorbe dall'intestino con estrema rapidità e che si elimina subito per i polmoni, aumentando notevolmente, ma per breve tempo, il tasso della sua esalazione polmonale.

5° Idrogeno solforato.

È un gas dei più importanti e dei più frequenti nelle putrefazioni delle materie animali.

La quantità dell'H_2S nei gas intestinali è molto piccola e non è calcolabile quantitativamente; ma bisogna considerare che la quan-

tità svoltasi nell'intestino è alle volte maggiore di quella che potrebbe supporsi in vista della piccola quantità che se ne trova nel canale digestivo.

Non dobbiamo dimenticare quanto sia grande il coefficiente di assorbimento dell'idrogeno solforato; esso è 100 volte maggiore di quello dell'ossigeno, il quale si diffonde così facilmente ($O = 0,2989$; $H_2 S = 3,2326$ secondo Bunsen).

Per conseguenza l'idrogeno solforato, non appena diventa libero, si diffonde certamente nel sangue.

D'altra parte noi sappiamo che per abnormi decomposizioni nel contenuto intestinale, e in condizioni patologiche, l'idrogeno solforato può talvolta svolgersi in grande quantità. Molti autori attribuiscono ad avvelenamento per acido solfidrico: il dolore di capo, la vertigine e la nausea, sintomi frequenti del catarro gastro-enterico e della stipsi ostinata. Senator (1) ha descritto un grave avvelenamento per idrogeno solforato di origine intestinale, in un uomo affetto da catarro intestinale acuto. Emminghaus (2) ne ha descritto un altro in un caso di ascesso fecale peritoneale.

L'eliminazione polmonale dell'idrogeno solforato è stata dimostrata già da molto tempo per merito di Cl. Bernard. Questi riuscì ad iniettare lentamente nelle vene dei cani una soluzione acquosa satura di questo gas, senza procurare il benchè minimo segno di avvelenamento, perchè l'$H_2 S$ veniva eliminato subito per i polmoni; come poteva constatarsi mercè una cartina piombica avvicina alle narici. Al contrario, una piccola quantità introdotta nel sangue arterioso determinava rapidamente la morte.

Anche Peyron (3) constata nell'aria espirata del cane la presenza di questo gas, subito dopo l'iniezione rettale di una soluzione satura a dose tossica.

Ma Flint e Grauer (4) dichiarano al contrario che l'idrogeno solforato introdotto nel retto o sotto la cute non si elimina in generale dai polmoni, e se ciò avviene, è in quantità estremamente minima.

(1) *Ueber einen Fall von Hydrothionämie u. über Selbstinfection durch abnorme Verdauungsvorgänge.* Berliner klin. Wochenschr. 1868, p. 254.

(2) *Zwei Fälle von mehrfacher Perforation des Verdauungscanals und Schwefelwasserstoffgehalt.* Berlin. klin. Woch. 1872, n. 40.

(3) *Du danger que peuvent présenter les injections d'hydrogène sulfuré dans le rectum.* Soc. de Biologie, 20 nov. 1886.

(4) Medical News, dec. 1887.

Uchinsky (1) ne constata una eliminazione polmonale immediata, ma di breve durata e molto debole. La quantità era nelle sue esperienze così piccola, da sfuggire a qualsiasi valutazione. Binet (2) invece osserva nei conigli una regolare eliminazione polmonale dell'idrogeno solforato in soluzione acquosa, introdotto per via gastrica o rettale, anche a dose non tossica.

Nelle nostre esperienze l'impiego dell'idrogeno solforato non è stato suggerito dalla necessità di confermare un fatto che ormai non è più discutibile, quello cioè della esalazione polmonale dell'H_2S intestinale, ma dalla possibilità di poterne studiare e determinare la eliminazione parallelamente a quella dell'acido carbonico.

I cani sopportano assai bene le iniezioni rettali di notevoli quantità di idrogeno solforato, tanto allo stato di gas come in soluzione acquosa satura, ma nel corso delle nostre esperienze, delle quali presentiamo più sotto alcuni saggi, abbiamo osservato che, ad alte dosi esso determina sempre delle gravi enteriti che guariscono lentamente e che rendono le pareti intestinali meno permeabili all'assorbimento dei gas.

Ciò dimostra che anche l'assorbimento dei gas da parte dell'intestino è soggetto forse alle stesse leggi che regolano l'assorbimento delle sostanze nutritive, che diviene, come è noto, difettoso e insufficiente in quasi tutte le malattie funzionali ed organiche del tubo digerente.

Un fatto che ha richiamato costantemente la nostra attenzione nel corso di queste esperienze eseguite con l'acido solfidrico, è il seguente. Subito dopo l'iniezione solfidrica rettale, i cani non presentano alcun fenomeno apparente e rimangono tranquilli, ma non appena le cartine piombiche poste innanzi alle narici, cominciano a svelare col loro imbrunimento (dopo pochi secondi) la comparsa del gas solfidrico, questo si elimina dai polmoni in modo rapidissimo e quasi tumultuario; le cartine piombiche anneriscono ad un tratto e nel frattempo i cani sono presi da una dispnea espiratoria che talvolta diviene imponente. Gli atti espiratorî sono allora ampî, profondissimi e prolungati: parrebbe quasi che i polmoni si scaricassero di una quantità enorme, ingombrante, di gas.

Effettivamente questo periodo corrisponde alla più alta esalazione del gas solfidrico, che cessa quasi del tutto dopo circa 20-30 minuti.

---

(1) *Die Schwefelwasserstoffvergiftung.* Zeitsch. f. phys. Chem., 1892, p. 221.
(2) *Recherches sur l'élimination de quelques substances médicamenteuses, etc.* Revue méd. de la Suisse rom., 1893, p. 335.

La determinazione dell'idrogeno solforato nell'aria espirata nel pallone, veniva eseguita mediante il suo graduale gorgogliamento attraverso una bottiglia da lavaggio contenente 20 c. c. della ordinaria soluzione $\frac{N}{10}$ di iodio.

ESPERIENZA XV. — Cane di grossa taglia kg. 20.

18 febbraio.

Analisi dell'aria espirata prima dell'esperienza (media di due determinazioni): mgm. 54 di CO_2 per litro.

Si iniettano nel retto 40 cc. di una soluzione acquosa satura di H_2S e si dosa nell'aria espirata il CO_2 e l'H_2S.

Resultato (media di 2 determinazioni):

CO_2 = mgm. 49.45 per litro.
H_2S = » 0.40 »

Diminuzione del CO_2 nell'aria espirata durante l'esalazione del gas solfidrico = mgm. 4.55 per litro.

ESPERIENZA XVI. — Cane bastardo di kg. 18.

19 febbraio.

CO_2 nell'aria espirata prima dell'esperienza = mgm. 61.75 per litro.

Si iniettano nel retto 200 cc. di una soluzione acquosa satura di H_2S. Dopo qualche minuto compare una imponente dispnea espiratoria. Si raccolgono nel pallone di gomma i primi 100 litri di aria espirata dopo l'iniezione. A questo punto si constata, con cartine piombiche, che l'eliminazione dell'H_2S è molto diminuita.

L'analisi dell'aria espirata, dopo l'iniezione, dà i seguenti resultati:

CO_2 = mgm. 37.25 per litro.
H_2S = » 0.48 »

Diminuzione del CO_2 nell'aria espirata durante l'esalazione del gas solfidrico = mgm 37.28 per litro.

ESPERIENZA XVII. — Cane bianco di kg. 19.500.

22 febbraio.

CO_2 nell'aria espirata, prima dell'esperienza = mgm. 60 per litro.

Si iniettano nel retto 200 cc. di una soluzione acquosa satura di H_2S. Comparisce la consueta dispnea espiratoria.

Si raccoglie immediatamente l'aria espirata e si riempie il pallone di 100 litri in 15 minuti. Dopo 20 minuti le cartine piombiche non rivelano più alcuna esalazione di gas solfidrico.

L'analisi dell'aria del pallone fornisce i seguenti resultati (media di 2 determinazioni):

CO_2 = mgm. 40.25 per litro.
H_2S = » 0.60 »

Diminuzione del CO_2 nell'aria espirata durante l'esalazione di gas solfidrico = mgm. 10.75 per litro.

ESPERIENZA XVIII. — Cane di kg. 21.

23 febbraio.

CO_2 dell'aria espirata, prima dell'esperienza = mgm. 56.5 per litro.

Si iniettano nel retto 400 cc. di una soluzione acquosa satura di H_2S. Immediatamente comincia la dispnea espiratoria e l'eliminazione di grande quantità di H_2S. Poco dopo compaiono delle violente contrazioni muscolari, seguite da completo rilasciamento di tutto il corpo. La respirazione si sospende, ma il battito cardiaco segue vigoroso e frequente. Si fa la respirazione artificiale per 45 minuti e l'animale finisce col riaversi, ma espelle per l'ano una buona parte dell'acqua iniettata, mista a materie fecali. Con l'aria espirata non esce più H_2S.

I pochi litri (15) di aria espirata dopo l'iniezione dell'acqua solfidrica nel retto e raccolti nel pallone, vengono analizzati e danno il seguente resultato:

CO_2 = mgm. 34.2 per litro.
H_2S = » 0.60 »

Diminuzione del CO_2 nell'aria espirata durante l'esalazione del gas solfidrico = mgm. 22.3 per litro.

NB. Questo cane muore il giorno seguente con tutti i sintomi di un avvelenamento solfidrico. Nel retto, nel colon, nel cieco, sino all'ileo, la mucosa è sede di una gravissima infiammazione emorragica, con abbondanti grumi sanguigni tenacemente aderenti. Enorme congestione renale; la vescica contiene 60 gm. di urina albuminosa.

ESPERIENZA XIX. — Cane di kg. 12.

28 febbraio.

CO_2 dell'aria espirata prima dell'esperienza = mgm. 46.25 per litro.

Iniezione rettale di 800 cc. di gas H_2S.

Dopo pochi secondi comincia la dispnea espiratoria, ma dopo alcuni minuti cessa improvvisamente il respiro ed appresso il battito cardiaco. L'animale muore.

L'analisi dei pochi litri di aria espirata raccolta nel pallone, dà i seguenti resultati:

CO_2 = mgm. 26.63 per litro.
H_2S = » 1.30 »

Diminuzione del CO_2 nell'aria espirata durante l'esalazione di gas solfidrico = mgm. 19.25 per litro.

ESPERIENZA XX. — Cane di kg. 14.

1 marzo.

CO_2 dell'aria espirata prima dell'esperienza = mgm. 48.75 per litro.

Iniezione rettale di 200 cc. di gas H_2S.

Dopo pochi secondi cominciò la dispnea espiratoria. L'H_2S si elimina rapidamente: dopo l'esalazione di circa 30 litri di aria espirata, questa comincia a presentare soltanto delle tracce di H_2S.

L'analisi di 50 litri d'aria raccolta nel pallone fornisce i seguenti resultati:

CO_2 = mgm. 28.25 per litro.
H_2S = » 0.80 »

Diminuzione del CO_2 nell'aria aspirata, durante l'esalazione del gas solfidrico = mgm. 20.50 per litro.

ESPERIENZA XXI. — Coniglio di kg. 1.750.

16 luglio.

Iniezione rettale di 10 cc. d'una soluzione acquosa satura di H_2S.

Dopo un minuto le cartine piombiche rivelano nell'aria espirata la presenza di H_2S. L'animale è dispnoico e l'eliminazione del gas si protre per circa due minuti.

ESPERIENZA XXII. — Coniglio di kg. 2.160.

17 luglio.

Iniezione rettale di 5 cc. d'una soluzione acquosa satura di H_2S.

Dopo pochi secondi si ha una lieve, ma evidente prova della sua eliminazione polmonale. L'animale non presenta alcun disturbo apprezzabile.

I resultati di queste esperienze confermano anzitutto ciò che potevamo aspettarci anche *a priori*, ossia la rapida eliminazione polmonale del gas solfidrico dell'intestino.

Ma questa esalazione polmonale non provvede a tutto l'H_2S contenuto nel tubo digestivo. Siccome la quantità di H_2S che si raccoglie nel pallone non rappresenta che una minima parte di quello che si elimina per altre vie o che viene decomposto nel sangue e nel fegato (Roger e Garnier), così noi dobbiamo ritenere che in condizioni ordinarie, la esalazione polmonale del gas H_2S si verifichi solo allorquando esso si produca nell'intestino in quantità rilevanti.

Rimane poi un'ultima osservazione interessante e che emerge in modo netto da tutte le esperienze: vale a dire la diminuzione della esalazione di CO_2 tutte le volte che il polmone esala in pari tempo dell'H_2S.

Si potrebbe a prima vista supporre che la somma della duplice esalazione gassosa (CO_2 e H_2S) compensasse la diminuzione verificatasi nella esalazione carbonica, ma ciò non si verifica affatto.

La maggiore esalazione di H_2S ottenuta nelle nostre esperienze è stata di mmg. 1,3 per litro: ora questo peso corrisponde al volume di c.c. 0,85 mentre la diminuzione di CO_2 per litro è stata di mmg. 4,55 — 37,28 — 19,75 — 22,3 — 19,25 — 20,50, che corrispondono rispettivamente al volume di c.c. 2,25 — 18,75 — 9,73 — 11,21 — 9,68 — 10,31.

Ciò significa che l'H_2S non ha sostituito volumetricamente l'CO_2 e che *la diminuita esalazione polmonale di quest'ultimo è reale e non apparente*.

Questa osservazione ci riconduce incidentalmente al tanto dibattuto meccanismo delle intossicazioni da acido solfidrico, intorno a cui crediamo opportuno di fare alcune considerazioni.

Le opinioni contradittorie che dominano su questo argomento, dimostrano come una spiegazione soddisfacente dei fatti non sia stata data ancora. I fatti bene accertati non sono, in fondo, molti. In prima linea sta la constatazione che i cadaveri degli uomini e degli animali avvelenati con H_2S presentano quasi costantemente le note cliniche e anatomiche dell'asfissia, confermate dall'esame chimico e spettroscopico del sangue.

Si sa d'altra parte che l'H_2S ed i solfuri alcalini hanno spiccato potere riducente e che l'H_2S può formare coll'ossiemoglobina una combinazione, la solfometaemoglobina o solfoemoglobina.

È noto inoltre che l'H_2S può legarsi agli alcali del sangue a preferenza dell'CO_2 perchè esercita una funzione acida più forte.

Molte furono le ipotesi che si costruirono sulla base di questi dati, circa il meccanismo d'azione dell'H_2S sull'organismo.

Dimostrato che alla combinazione dell'H_2S coll'ossiemoglobina, alla solfoemoglobina, non si poteva dare alcun serio valore, le ipotesi più verosimili si ridussero essenzialmente a due: quella antica sostenuta principalmente dallo Hoppe-Seyler, da Kaufmann e Rosenthal, dal Landois, ecc. di un'azione riduttrice esercitato dall'H_2S sull'ossiemoglobina con formazione di solfo, acqua e emoglobina; e l'altra, più recente e più generalmente accettata, sostenuta sopratutto dal Rohl (1) e dal Lehmann (2) secondo la quale il meccanismo di questo avvelenamento consisterebbe nel potere tossico dei solfuri alcalini formatisi nel sangue, sul sistema nervoso centrale. Mancano tuttavia dimostrazioni sperimentali esaurienti tanto da un lato come dall'altro.

Ora le nostre esperienze gettano molta luce sulla questione, sopratutto per quanto riguarda la spiegazione adeguata dei fenomeni asfittici che dominano il quadro clinico e anatomo-patologico dell'avvelenamento per H_2S.

Noi abbiamo constatato che appena comincia l'assorbimento dell'H_2S da parte dell'organismo animale e contemporaneamente all'apparire della dispnea caratteristica dell'intossicazione carbonica, si verifica un abbassamento notevolissimo nella quantità di CO_2 eliminato dal polmone, ciò che equivale ad una ritenzione notevolissima di CO_2 da parte dei tessuti. E di ritenzione devesi veramente

(1) *Ueber die Wirkungsweise des Schwefelwasserstoff u. der Schwefelalkalien.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 22, p. 1.

(2) *Experim. Studien u. der Einfluss technisch u. hygienisch wichtiger Gase u. Dämpfe auf der Organismus.* Chemisches Centralblatt, 1892, p. 99.

trattare, non potendosi pensare che la diminuita eliminazione dell'CO_2 sia in dipendenza di un minore afflusso di ossigeno ai tessuti, prodotto da riduzione dell'ossiemoglobina da parte dell'H_2S. Infatti, dato pure che un minore efflusso di O ai tessuti si verificasse veramente, noi sappiamo ad ogni modo che esso non potrebbe esser causa di un rapido, subitaneo abbassamento nell'eliminazione dell'CO_2 da parte di essi, poichè le esperienze di Pflüger ci insegnano che la cessione dell'O e la formazione di CO_2 sono due processi i quali nei tessuti si compiono bensì l'uno accanto all'altro, ma non dipendono immediatamente l'uno dall'altro.

La natura intima di questa ritenzione di CO_2 resulta poi chiara se si pensi che l'CO_2 viene convogliato dal luogo di sua formazione al polmone per mezzo degli alcali del sangue e che questi hanno maggiore affinità per l'H_2S che non per l'CO_2.

Combinandosi dunque una parte degli alcali del sangue all'H_2S si rendono perciò inetti al trasporto dell'CO_2 donde una diminuzione di questo nell'aria espirata.

Accade lo stesso fatto che si vede avvenire in generale per le iniezioni di acidi in circolo.

A questo punto si presenta tuttavia naturale un'obbiezione.

L'alcalinità del sangue, quale viene valutata coi comuni mezzi, è assai grande e sembrerebbe che dovesse essere più che sufficiente per neutralizzare tutto l'CO_2 formatosi nei tessuti e contemporaneamente anche le dosi tossiche di H_2S circolanti. Ma dal momento che l'esperienza dimostra come ciò non avvenga, bisogna pensare (e ciò non è forse senza importanza dal punto di vista fisiologico generale) che soltanto una parte relativamente esigua degli alcali del sangue è atta a servire per il trasporto dell'CO_2 dai tessuti al polmone, quella a funzione più fortemente basica, sulla quale si fissa perciò anche di preferenza l'H_2S.

E la ragione perchè l'H_2S è più dannoso quando venga direttamente portato nel circolo arterioso, sta forse nel fatto che esso quivi può fissarsi subito in quella parte degli alcali del sangue che è più particolarmente atta a servire di veicolo all'CO_2 e che nel sistema arterioso si trova libera dalla sua combinazione con questo gas.

Concludendo, noi non vogliamo già negare che una parte (in certi casi di avvelenamento acutissimo certo la maggiore) nel meccanismo dell'intossicazione per H_2S sia dovuta all'azione diretta dei solfuri alcalini sul bulbo, ma ci preme di rilevare come dalle nostre esperienze resulti d'altronde indubitato che la ritenzione CO_2 ne è

l'elemento non meno importante. Ad essa si deve lo stato asfittico caratteristico dell'intossicazione solfidrica. E siccome questo stato asfittico insorge già per quantità relativamente piccole di H_2S (dispnea) ne consegue che anche le piccole dosi di questo gas devono considerarsi come velenose, sia che esse vengano assorbite dalla circolazione velenosa, sia, ed a maggior ragione, che entrino direttamente nel sistema arterioso.

Conclusioni.

Dall'insieme di queste ricerche noi crediamo di poter dedurre le seguenti conclusioni generali:

1. Per la superficie polmonale possono eliminarsi regolarmente sostanze gassose o volatili, organiche ed inorganiche, presenti nel tubo digestivo.

2. Questa eliminazione non sembra apparentemente disciplinata da veruna regola fissa, ma si effettua ogni qualvolta si verifichino nell'intestino delle abnormi produzioni di sostanze volatili o gassose.

3. L'esalazione polmonale di qualcuna di tali sostanze gassose (H_2S) non si trova in alcun rapporto diretto con la esalazione dell' CO_2, anzi, quanto maggiore appare la esalazione dell' H_2S, tanto minore resulta quella dell' CO_2.

4. Si rende sempre più verosimile la supposizione che le sostanze volatili, ancora indeterminate, della esalazione polmonale, sieno di origine intestinale e rappresentino svariati prodotti delle fermentazioni intestinali.

Da questi resultati sperimentali possono infine trarsi le seguenti conclusioni pratiche:

1. Il criterio stabilito dal Pettenkofer per determinare il limite di tolleranza di un'atmosfera confinata, non riposa sopra nozioni precise circa la esalazione polmonale delle sostanze gassose o volatili, considerate come nocive.

2. L'ordinario valore-limite dell'acido carbonico, come indice dell'inquinamento atmosferico, non può avere quindi che una scarsa importanza pratica.

Bologna, 30 luglio 1901.

ISTITUTO D'IGIENE DELL'UNIVERSITÀ DI ROMA

Contributo allo studio dell'alimentazione del contadino italiano

(Alimentazione di patate, erbe e granturco)

Ricerche del Dott. **MASSIMO CAMPEGGIANI.**

Mi son proposto di studiare un tipo d'alimentazione che è abbastanza ovvio trovare nelle classi povere, ben lieto di poter arrecare un modesto contributo ai numerosi lavori che si son fatti in Italia sulle razioni alimentari deficienti.

Prima di esporre i risultati degli esperimenti stimo che non sia privo d'interesse, nè fuori luogo citare alcuni dati statistici che si riferiscono alla produzione delle patate in Italia e all'estero.

Dall'ultimo bollettino di statistica agraria del 1895 rilevo le seguenti cifre sulla produzione nelle varie provincie:

	Ettari coltivati	Quintali patate
Piemonte	16,636	645,840
Lombardia	14,554	756,125
Veneto	11,113	350,645
Liguria	11,464	344,411
Emilia	7,783	314,573
Marche	13,922	425,533
Toscana	15,596	748,182
Roma	4,949	233,198
Meridionale-Adriatica	43,962	1,104,015
Meridionale-Mediterranea	62,406	1,911,502
Sicilia	1,663	123,497
Sardegna	4,491	64,752
Nel Regno	208,539	7,022,273

La produzione e il consumo nel quinquennio 1891-1895 furono:

	Ettari coltivati	Produzione quintali	Consumo quintali
1891	181,137	7,391.620	5,460,050
1892 . . .	194,221	7,667,312	5,526,682
1893 . . .	198,155	8,089,492	5,969,142
1894 . . .	200,017	6.213,687	3,989,027
1895 . . .	208.539	7,022,273	4,784,833

In Francia la produzione totale nel quinquennio 1895-1899 è stata, come si rileva dall'ultimo bollettino del Ministero di agricoltura:

1895 . .	Quint.	129,249,146	Media quintali 121,771,578.
1896 . .	»	129,453,389	
1897 . .	»	113.176,149	
1898 . .	»	118,321,602	
1899 . .	»	123,476,410	

Negli altri Stati nel 1899 la produzione ammontò: in Algeria a quintali 300,276, nella Gran Brettagna 31,259,485, in Irlanda 28,044,515, in Danimarca 6,643,000, in Norvegia 8,536,000, nella Svezia 11,955,400, in Russia 252,412,563, nel Belgio 32,161,916, in Olanda 27,538,000, in Germania 384.862,000, in Austria 107,902,637, in Ungheria 38,650.982, nella Rumania 602,280, nella Serbia 425.133, negli Stati Uniti d'America 80,074,131.

Come si vede la produzione delle patate è considerevole, e quindi l'uso n'è largamente diffuso, non dico in Italia, ma in tutto il mondo. Vero è che non tutte sono adibite all'alimentazione dell'uomo: va tenuto conto di quella parte che si adopera per la preparazione dell'alcool e di quella che si consuma per l'ingrassamento degli animali. Ma ne resta sempre una gran quantità che costituisce il solo o il precipuo mezzo con cui le classi più povere possono soddisfare all'imperioso bisogno della nutrizione.

Ci sono infatti regioni d'Italia in cui le patate costituiscono la parte prevalente nell'alimento del proletariato.

Citerò a tal proposito fedelmente i risultati dell'inchiesta Bertani sull'alimentazione popolare in Italia.

Nella provincia di Torino « si calcola che un uomo di media corporatura consumi annualmente due ettolitri e mezzo di frumento, uno e mezzo di granturco, 18-20 miriagrammi di patate... »

« Nella provincia di Cuneo, specialmente nella zona montanina, la

patata entra largamente con la segale, il granturco e le castagne nell'alimentazione. »

Colle patate, colle castagne, coi legumi, oltre che col pane di granturco si nutrono assai gli abitanti del circondario di Susa.

Nel Novarese due donne ed un uomo consumano tre chili e mezzo di pane al giorno, 170 chili di fagiuoli all'anno, 150 di patate.

In Lombardia (circondario di Salò) « nella montagna si fa molto uso di castagne e di patate. »

Nel contado Veneto sopra 100 comuni si fa uso di patate in 7.

« Nella zona confinante col Veronese e Rovighese si mangia patate insieme con polenta, pesce, uova, cipolle... »

Nella provincia di Parma « verso l'alto colle, sparisce il pane puro, restando di mistura; cresce il legume, la castagna e le patate s'introducono nell'alimentazione. »

Nella provincia di Reggio Emilia « il colono meno agiato fa uso quasi tutto l'anno di polenta condita alla meglio, patate, fagiuoli e mangia la minestra tre volte la settimana. »

Nella provincia di Massa e Carrara « nelle regioni montuose l'alimentazione è prevalentemente di farina di castagne e vi si aggiunge patate, fagiuoli... »

Similmente nel circondario di Castelnuovo di Garfagnana e di Pontremoli (patate. fagiuoli, fave, granturco, castagne...).

Nella provincia di Perugia alcuni mezzadri mangiano la torta di granturco la mattina e la sera, e il più delle volte solo alla sera aggiungono cipolle crude, patate ed erbe cotte.

Nella provincia di Aquila « l'alimentazione dei contadini ordinariamente è di polenta, di pane misto, di patate, castagne, fave, fagiuoli..., carne di maiale fresca o secca, pesce salato... »

Nella provincia di Cosenza « in taluni luoghi si mangia pane di granone o di frumento, in alcuni quello di castagne, minestra di legumi freschi e secchi, paste di casa e di patate. »

Nella provincia di Reggio Calabria i contadini mangiano: « alla mattina pane o solo e condito con olio e sale o con cipolle e peperoni crudi, alla sera il cosidetto *caldo*, che nell'inverno è un piatto di polenta, di fagiuoli o di patate; i lavoratori dei comuni più poveri adoperano un pane di lente selvatica (fraca), e quando possono aggiungere altra cosa scelgono la polenta, la minestra non condita, le patate o i fagiuoli. »

Nel circondario di Monteleone (Calabria) fanno uso quotidiano di minestra di legumi, o di verdure, o di patate; e nel mandamento

di Cortale (circondario di Nicastro) « in tutti i tempi e in tutti i giorni si cibano di solo pane di granone e alla sera di una minestra di erbe o per lo più di patate. »

Nelle provincie di Messina e Siracusa « alla sera usan minestra composta di fave o patate, legumi, riso, cipolle ed altre verdure... »

Nel circondario di Nuoro (Sassari) in molti paesi, come a Fonni, « le patate costituiscono il principale alimento. »

***

Come risulta da queste citazioni *in nessun paese d'Italia si fa una nutrizione esclusiva di patate. Queste però dove più, dove meno nelle regioni montuose e povere, costituiscono la parte prevalente dell'alimento giornaliero, e vengono usate insieme con farina di granturco e con erbe.*

Ed è appunto di questo genere di alimentazione mista, ma fatta prevalentemente di patate, che mi sono proposto di stabilire il valore nutritivo.

Nello scegliere il soggetto ebbi di mira che egli — per le sue condizioni abituali di vita — fosse tale da scostarsi il meno possibile dalle condizioni di esperimento.

Ebbi la fortuna di trovarlo tra i nostri contadini della campagna romana.

Alessandro Tiburzi, di anni 36, nativo di Amandola (Ascoli Piceno), è un operaio affezionato ed ubbidiente; ha moglie e figli sani, anch'egli è di costituzione sana, robusto, è ben sviluppato della persona, alto m. 1. 75, pesa kg. 83. 500. Mangia abitualmente polenta, pane di granturco, patate, erbe, talora (estate) pane di grano, raramente beve vino.

Egli a seconda del suo sistema faceva due pasti al giorno: uno alle 11 ant., uno alle 5 della sera; presso a poco i pasti erano della medesima copia, la quantità era segnata dal suo senso di sazietà; beveva acqua. Attendeva egli stesso alla preparazione del cibo. Scelsi una buona qualità di patate, perchè le ricerche non fossero male influenzate da disturbi gastrointestinali.

Il soggetto dormiva nell'ambito dell'Istituto d'igiene ed era sorvegliato da me e da un inserviente di fiducia.

Tutte le mattine nelle medesime condizioni e alla stessa ora lo pesavo, non per tener conto assoluto delle variazioni giornaliere, poichè una perdita di albumina e di grasso può essere sostituita da un maggiore assorbimento d'acqua nei tessuti, ma per sorvegliare all'ingrosso l'andamento del ricambio dalle oscillazioni del peso.

Conservavo le orine dalle 11 ant. alle 11 del giorno seguente e le calcolavo a centimetri cubi; le feci emesse regolarmente ogni giorno, circa alla

stessa ora, e raccolte in recipienti separati venivano riferite al giorno precedente.

Per le analisi quantitativa e qualitativa procedevo così: pesavo il pasto, ne prendevo una ventesima parte e la conservavo in vaso a tappo smerigliato, e alla sera, raccolto l'altro pasto, mescolavo il tutto in mortaio di porcellana fino a poltiglia omogenea. Similmente delle feci pesate e mescolate prendevo una parte e delle orine cinque centimetri cubici.

Per determinare l'umidità mettevo ad essiccare le sostanze (pasto e feci) nella stufa a 100 C. fino a peso costante (per circa 6 ore).

Per determinare l'azoto ho seguito il metodo di Kjeldhal colla modificazione di Gunning e Arnold. Ponevo 1-3 grammi di sostanza in un pallone di Iena a collo lungo della capacità di circa 800 cmc. e insieme 5-10 cmc. di acido solforico, 25 cgm. di solfato di rame, e 25 cgm. di ossido rosso di mercurio. Collocavo il pallone sopra una fiamma a debole intensità fino a che il liquido non fosse scolorato. Diluito il liquido in 200 cmc. d'acqua, aggiungevo soda caustica fino a neutralizzazione e qualche goccia di solfuro di potassio. Distillavo e raccoglievo il distillato in un matraccio (contenente 10 cmc. di soluzione normale decima di acido solforico) fino a che non si presentava più reazione alcalina. Titolavo, aggiungendo una soluzione normale decima di potassa fino a che l'indicatore (fenoftaleina) non desse una *nuance* rosea, e dalla differenza tra l'acido adoperato e l'alcali deducevo la quantità dell'acido che era servito a neutralizzare l'ammoniaca distillata, ossia dell'ammoniaca stessa; l'azoto lo deducevo colla formula $N = \frac{14 \times R}{100}$ (in cui R indica il numero dei cmc. d'acido consumato) e moltiplicavo per 6.25 per aver le sostanze azotate. Simile processo adoperavo per determinare l'azoto delle orine, coll'avvertenza di farne evaporare l'acqua prima di aggiungere il solfato di rame e l'ossido di mercurio.

Estraevo il grasso coll'apparecchio di Sohxlet: pesati 3-4 grammi di sostanza (pasto, feci) li stemperavo con arena di mare e mettevo il tutto prima ad essiccare nella stufa e poi, fattone un pacchetto colla carta da filtro, per 8 ore nell'apparecchio di Sohxlet. Evaporato l'etere pesavo il matraccio dopo averlo posto ad essiccare nella stufa.

Pei sali incenerivo 5-6 grammi di sostanza (pasto, feci) in un crogiuolo di platino, dopo determinata l'umidità.

Le sostanze idrocarbonate le ho calcolate per differenza.

Per l'esattezza dei dati analitici giova fare due osservazioni:

1° Sappiamo che l'etere estrae dalle feci oltre il grasso anche lo scatolo, l'indolo..., quindi le cifre del grasso nelle feci si riferiscono piuttosto alle sostanze estrattive trasportate dall'etere.

2° Riguardo alle sostanze idrocarbonate si ha che il carbonio in parte viene eliminato colla respirazione, ed occorrerebbe il grande apparecchio di Pettenkofer per tenerne conto. Ma trascurando quella parte, l'errore è lieve, specialmente perchè la quantità di queste sostanze è sempre, come vedremo, esuberante.

***

Ho diviso le ricerche in 3 periodi.

Il 21 gennaio incominciai gli esperimenti. Il primo giorno non tenni conto del cibo ingerito, nè delle relative feci e orine. Poi per un periodo di sei giorni feci nutrire l'individuo di *patate,* di *farina di granturco* e di *erbe* (in preponderanza di patate); e per altri tre giorni gli permisi di aggiungere, in un 2° periodo, alla sua dieta *pane di grano;* tra il primo ed il secondo periodo feci decorrere un giorno, che servì di passaggio, senza fare le consuete ricerche. In un terzo periodo, anche questo di tre giorni, conservando la medesima dieta (patate, pane di grano, farina di granturco e erbe) ricercai il comportamento del ricambio allo stato di attività, che è il fisiologico per il nostro contadino. Egli abitualmente era chiamato ai lavori della vigna e delle campagne tenute a semina o a prato; nel nostro Istituto gli feci ordinare la cantina, pulire l'orto, dissodare un campicello.

Medie giornaliere del ricambio.

La media giornaliera delle cifre che si riferiscono al ricambio dei primi sei giorni è la seguente:

	Razione 3032.5	Feci 272	Assorbimento 91.03 %	Orine 3039.3	Assimilazione
Umidità	2051.203	221.800	—	—	—
Sostanze azotate.	61.226	17.86	70.83 %	47.553	— 1.188
Sostanze idrocarbonate . .	786.58	18.400	97.66 %	—	—
Grassi.	61.171	5.52	90.92 %	—	—
Ceneri.	72.32	8.421	88 36 %	—	—

Tenendo conto che l'assorbimento delle sostanze ingerite risulta dalla quantità loro meno la quantità eliminata con le feci, pel cibo in massa le perdite furono 8,07 %; la perdita delle sostanze azotate fu del 29,17 %, mentre Voit per il suo operaio medio normale dà

il 12 %; la perdita del grasso fu del 9,03 %, mentre secondo Rubner dovrebbe essere del 5 %; per le sostanze idrocarbonate la perdita fu del 2,34 %: Voit trovò nel suo vegetariano il 3 %.

Riguardo al bisogno della nutrizione in quanto basti a riparare le perdite, siamo ben lontani, sotto il punto di vista delle sostanze azotate, dalle cifre di Voit, che per il suo operaio di 70 chili stabilisce la dieta in grammi *118* di sostanze azotate, *56* di grasso, *500* di sostanze idrocarbonate, e per l'operaio allo stato di riposo in grammi *100* di sostanze azotate, *50* di grasso, *400* di sostanze idrocarbonate.

Notiamo invece l'esuberanza di idrati di carbonio, il che spiega anche l'elevato numero delle calorie (1).

Nella nostra alimentazione il numero delle calorie assorbite fu altissimo: 3845, mentre Rubner stabilisce come cifra media 2868.

In rapporto al peso del corpo Rubner stabilisce la media di 40-50 calorie per ogni chilo, io ne trovai 46,5; e in rapporto alla superficie del corpo 1399 per ogni metro quadrato e 1189 allo stato di riposo; io ne trovai 1679 (2).

È noto inoltre che in una buona alimentazione le singole sostanze nutritive vi debbono partecipare in quel giusto rapporto, che corrisponde al consumo e al bisogno dell'organismo, e in media è stabilito in 1 di sostanze azotate, 1 di grasso e 4 di idrati: ossia 1 di sostanze azotate e 5 di non azotate: nel nostro caso invece trovai il *rapporto di 1: 13. 9.*

Infine è molto importante pel valore nutritivo di un'alimentazione il bilancio dell'albumina, che si stabilisce paragonando la quantità di azoto introdotta mediante il cibo con la quantità di azoto eliminata mediante le orine e le feci; nel nostro individuo trovai *un deficit di gm. 4 e 188 milligrammi di sostanze azotate al giorno.*

---

(1) Determinai le calorie con i coefficienti termici stabiliti in media da Rubner (4,1 per ogni grammo di sostanze azotate, che si è assorbito; 9,3 per ogni grammo di grasso; 4,1 per ogni grammo di sostanze idrocarbonate).

(2) Per determinare la superficie del corpo miservii della nota formola di Mech $x = k \times \sqrt[3/2]{a}$, in cui a = peso del corpo, k = 12,5, rapporto costante tra il peso del corpo e la sua superficie.

***

Nel 2° periodo di ricerche ebbi le seguenti medie giornaliere:

	Razione 3033.33	Feci 232	Assorbimento 92.27 °/₀	Orine 2639.66	Assimilazione
Umidità	1992.346	184 469	—	—	—
Sostanze azotate.	65 417	15.504	76.29 °/₀	52.399	— 2 486
Grassi	19.780	5.713	71.12 °/₀	—	—
Sostanze idrocarbonate . . .	869.486	19.25	97.78 °/₀	—	—
Ceneri.	56.302	7.063	87.45 °/₀	—	—

Le perdite furono pel cibo in massa 7.73 °/₀, per l'azoto 23.71 °/₀, per le sostanze grasse 28.88, per le sostanze idrocarbonate 2.22, per le ceneri 12.55 °/₀.

Le calorie totali assorbite furono 3822, e quindi per ogni chilo di peso 46, per ogni metro quadrato di superficie 1669.

Il rapporto tra le sostanze azotate e le non azotate fu di 1 : 13.6.

La perdita giornaliera delle sostanze azotate fu di grammi 2,486.

Come si vede è migliorato l'assorbimento totale del cibo e dei singoli componenti, meno quello del grasso e delle ceneri. È migliorata la composizione del cibo in rapporto alle sostanze azotate e agli idrati di carbonio, diminuito il numero delle calorie in rapporto alla diminuzione dei grassi, migliorata la proporzione tra i componenti, diminuito il deficit di sostanze azotate.

Nel complesso adunque *l'alimentazione migliora coll'aggiunta del pane, e ciò è ovvio pensando alla migliore assimilabilità e costituzione di esso, ma rimane sempre al disotto delle cifre stabilite dai più accreditati sperimentatori per un'alimentazione sufficiente.*

***

Nel terzo ed ultimo periodo le medie giornaliere furono le seguenti:

	Razione 3378	Feci 271	Assorbimento 91.98 %	Orine 2509	Assimilazione
Umidità	2261.926	226.516	—	—	—
Sostanze azotate	80.624	19.054	76.36 %	70.102	— 8.532
Grassi	36.197	4.283	88.18 %	—	—
Sostanze idrocarbonate . . .	942.357	13.594	98.56 %	—	—
Ceneri.	56.898	7.552	86.73 %	—	—

Le perdite furono pel cibo in massa 8.02 %, per le sostanze azotate 23.64, per il grasso 11.82, per le sostanze idrocarbonate 1.44, per le sostanze minerali 13.27 %.

Le calorie totali assorbite furono 4357.17; per ogni chilo di peso 52.2, per ogni metro quadrato di superficie del corpo 1903.

Il rapporto tra le sostanze azotate e le non azotate 1:12.1; la perdita giornaliera delle sostanze fu di grammi 8,532.

Risulta adunque che *col lavoro, aumentando il consumo delle forze, aumenta il bisogno della nutrizione, quindi la quantità totale del cibo e quella delle sostanze azotate, aumenta la perdita delle sostanze in massa e delle sostanze azotate nelle orine, si accentua il deficit dell'albumina, il titolo delle calorie per la più copiosa ingestione diviene esuberante.*

***

Terminati gli esperimenti volli interrogare il soggetto per raccogliere delle notizie che potessero essere importanti per il valore delle nostre ricerche. In ordine al genere dell'alimentazione, mi disse che era l'abituale, salvo che *mangiava le patate più raramente* e in minor quantità; prima condiva i suoi pasti con olio, ma accusava languore allo stomaco; adoprò il lardo e ogni disturbo cessò.

Disse che il secondo genere d'alimentazione era più ricco del-

l'abituale (inverno), perchè *mangiava il pane solo d'estate* invece della pizza di polenta. Egli infatti mangia d'inverno: pane di polenta il giorno, polenta la sera, qualche volta patate e fagiuoli, e spende 8-10 soldi; d'estate: pane di grano la mattina; pane con insalata a merenda; polenta, riso, pasta la sera e spende 12 soldi.

Tornando alle Marche mangia più spesso le patate, perchè le coltiva. Per la dieta sperimentale spendeva circa 50 centesimi al giorno.

Mi disse che in complesso la vita di quei giorni, anche per ciò che si riferiva al dormire, era migliore dell'abituale. Era circondato da persone che lo trattavano con amore e con riguardo e gli erano di buona compagnia. Mangiava a sufficienza e collo stesso appetito di prima; non aveva notato nessuna differenza in ordine allo stato generale, si sentiva ugualmente in forze. Le funzioni gastro-intestinali si mantennero sempre regolari, eccettochè negli ultimi due giorni le feci furono un po' lente.

Però il peso del suo corpo, senza dare un valore assoluto a questo dato, andò oscillando lievemente al di sotto del peso del primo giorno.

Il soggetto diventava pallido, depresso per quanto cercassi con attenzioni e con esortazioni di tenerlo sollevato.

***

Dai risultati degli esperimenti si può concludere che le razioni alimentari da me studiate:

1° sono deficienti di albumina;

2° sono deficienti di grassi;

3° sono esuberanti di idrati di carbonio, e vi è sproporzione fra sostanze azotate e non azotate;

4° non hanno un'assimilazione buona.

Per ciò che si riferisce al ricambio delle sostanze azotate (che è il dato più importante e più dimostrativo) vediamo che il deficit si attenua, migliorando l'alimentazione coll'aggiunta di pane, e si accentua invece col lavoro, e ciò è ovvio: sappiamo infatti che il lavoro è energia, è calore, e il maggior consumo deve esser reintegrato con migliore alimentazione; rimanendo questa invariata, sarà di necessità meno sufficiente che allo stato di riposo.

La produzione delle calorie è superiore alla media stabilita da Voit e da Rubner. A tal proposito credo opportuno osservare che sia per le condizioni speciali di sviluppo e di attività digestiva del

soggetto, sia per il bisogno dell'azoto, che insoddisfatto dal genere dell'alimentazione, spinge a cercare nella quantità dei cibi un compenso alla scadente qualità di essi, le razioni giornaliere erano copiosissime; risulta infatti una media superiore ai tre chili di sostanza umida al giorno, e circa un chilo di sostanza secca. Ma siccome il nostro organismo ha bisogno di sostanze nutritive come tali e solo una parte d'albumina è sostituibile con quantità isodinamiche di altre sostanze, il numero delle calorie per la natura dei cibi veniva ad essere esuberante, ma non veniva ad esser raggiunto lo scopo precipuo, il bilancio dell'albumina.

Confrontiamo ora le nostre cifre con le medie trovate per le varie alimentazioni del proletario italiano (Lezioni d'Igiene del prof. A. Celli, anno 1899-1900):

	Razione giornaliera in grammi delle sostanze nutritive						Perdita con le feci %		Bilancio delle calorie		
	Introdotte			Assimilate							
	Albuminose	Grasse	Amidacee	Albuminose	Grasse	Amidacee	Razione totale	Sostanze azotate	Totale	Per 1 kg. di peso	Per i mq. di superficie
Contadino Veneto: polenta e fagiuoli . . .	117	64	619	87	64	561	13	27	3247	—	—
Id. Emiliano { Inverno: polenta e minestra.	82	63	579	63	58	536	10	26	2724	44	1459
Id. Emiliano { Estate: pane e minestra . .	152	64	670	138	55	660	5	13	2906	51	1710
Id. Abruzzese: granturco . { 3ª qualità . .	61	43	805	43	36	761	8	30	3629	57	1822
Id. Abruzzese: granturco . { 1ª qualità . .	88	50	773	72	43	731	7	18	3691	58	1853
Id. dell'Appennino centrale { Castagne. . .	59	19	463	44	16	448	6	25	2167	36	1142
Id. dell'Appennino centrale { Ghiande . . .	123	62	251	98	56	235	11	20	1871	31	895
Contadino studiato dall'Autore.											
1° tipo: patate, granturco e erbe	61	61	786	44	56	768	8. 07	29. 17	3845	46. 5	1679
2° tipo: . . . id. . . . e pane .	65	19	869	50	14	850	7. 73	23. 71	3822	46	1669
3° tipo: . . . id.. id. . . . . (con lavoro moderato)	80	36	942	61	32	929	8. 02	23. 64	4357	52. 2	1903
Operaio medio normale di Voit	118	56	500	105	—	—	—	12	2868	40-50	1399

Per le sostanze azotate adunque il tipo dell' alimentazione in questione, come tutti gli altri (ad eccezione del contadino veneto e dell'emiliano di estate) è al disotto della media di Voit ed è il peggiore dopo quello a base di castagne e di granturco di terza qualità.

Sta tra i due per le sostanze grasse, mentre tutti gli altri ne mostrano sovrabbondanza.

Per gli idrati di carbonio rientra nella regola generale (eccezione fatta delle alimentazioni a base di ghiande e di castagne), mostra una cifra alta, anzi superiore a tutte le altre.

Per l'assimilazione delle sostanze albuminoidi tutte le alimentazioni (eccetto quella del contadino emiliano di estate) danno una cifra bassa, anche nei contadini veneti e in quelli che mangiano le ghiande, giacchè la cifra dell'albumina da questi ingerita ha un valore apparente, non essendo assimilata; ma il nostro tipo è tra gli ultimi dopo quelli a base di castagne e di granturco di 3ª qualità.

L'assimilazione delle sostanze grasse ed idrocarbonate si fa in tutti sufficientemente bene.

Riguardo alla perdita della razione totale per le feci, noi abbiamo ottenuto una cifra media tra le perdite maggiori (contadino veneto, contadino abruzzese che si nutre di ghiande) e le perdite minori (contadino emiliano d'estate); per la perdita dell'azoto la cifra più alta dopo quella dei contadini abruzzesi che mangiano il granturco di 3ª qualità.

Per il bilancio delle calorie invece, mentre coloro che si nutrono di ghiande e di castagne hanno cifre scadenti, il nostro tipo supera più che tutti gli altri le medie di Voit.

Quindi *il nostro tipo di alimentazione va messo fra le alimentazioni deficienti: è, ad eccezione del bilancio delle calorie, il più scadente dopo quello del contadino dell'Appennino centrale che si ciba di castagne e di ghiande, e del contadino abruzzese che mangia il granturco di terza qualità.*

PRIMO PERIODO.

TABELLA I.

Giorno 22 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 83. 300.

Razione.

1ª Pizza di polenta . . . . Grammi 380
Patate ed erbe con olio . . . . » 1168
2ª Polenta e patate con olio . . . . » 2165

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3713	1020. 33	290	52. 42	3053

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	2692. 67	237. 58	—
Sostanze azotate	68. 937	20. 937	50. 756
Sostanze grasse	64. 20	6. 92	—
Sostanze idrocarbonate.	825.873	16 483	—
Ceneri	61. 32	8.08	—

TABELLA II.

Giorno 23 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 83.800.

Razione.

1ª Patate ad insalata (olio, sale, aceto) . . . . Grammi 1330
Polenta residuale . . . . » 437
2ª Pizza di polenta . . . . » 304
Patate ed erbe con lardo . . . . » 1029

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3100	1042. 93	412	77. 49	2293. 3

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	2057. 07	334. 51	—
Sostanze azotate	38. 62	24. 187	44. 125
Grasso	69. 27	6. 30	—
Sostanze idrocarbonate	858. 48	36. 583	—
Ceneri	76. 56	10. 42	—

TABELLA III.

Giorno 24 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 83. 700.

Razione.

1ª Pizza di polenta. . . . . Grammi 334
Patate con lardo . . . . » 937
2ª Pizza di polenta. . . . . » 303
Patate ed erbe con lardo . . . . » 888

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
2462	977	153	32. 65	2660

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	1485	120. 349	—
Sostanze azotate	64. 931	12. 362	51. 205
Grasso	41. 83	3. 563	—
Sostanze idrocarbonate.	800. 239	11. 406	—
Ceneri	70	5. 32	—

TABELLA IV.

Giorno 25 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 83. 400.

Razione.

1ª Patate ed erbe con lardo . . . . Grammi 1140
Pizza di polenta . . . . » 366
2ª Polenta di granturco e patate con lardo . . . . . . » 1652

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3158	950. 33	320	48. 78	3515

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	2207. 67	271. 22	—
Sostanze azotate	68. 06	19. 187	46. 134
Grasso	104. 24	6. 03	—
Sostanze idrocarbonate.	703. 40	13. 303	—
Ceneri	74. 63	10. 26	—

TABELLA V.

Giorno 26 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 83 700.

Razione.

1ª Patate con lardo . . . . Grammi 858
Polenta residuale . . . . » 998
2ª Patate ed erbe con lardo . . . . » 986
Pizza di polenta . . . . » 325

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3617	969	190	38.40	3860

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	2198	151.60	—
Sostanze azotate	67.875	14.25	50.662
Grasso	49.62	5 91	—
Sostanze idrocarbonate.	770.695	10.17	—
Ceneri	80.81	8.07	—

TABELLA VI.

Giorno 27 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 83.900.

Razione.

1ª Patate ed erbe con lardo . . . . Grammi 1091
Pizza di polenta . . . . » 447
2ª Patate con lardo . . . . » 796
Pizza di polenta . . . . » 261

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
2595	928.19	267	51.41	2855

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	1666.81	215.59	—
Sostanze azotate	58.937	16.125	42.437
Grasso	37.87	4.43	—
Sostanze idrocarbonate.	760.793	22.475	—
Ceneri	70.59	8.38	—

SECONDO PERIODO.

TABELLA I.

Giorno 29 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 83.200.

Razione.

1ª Patate ed erbe con lardo . . . . Grammi 1081
Pane. . . . . » 208
2ª Patate ed erbe con lardo . . . . » 1349
Pane. . . . . » 164

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
2802	831.63	160	32.392	2592

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	1970.37	127.608	—
Sostanze azotate	58.687	12.437	54.659
Grasso	18.87	4.19	—
Sostanze idrocarbonate.	704.663	10.755	—
Ceneri	49.41	5.01	—

TABELLA II.

Giorno 30 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 82.700.

Razione.

1ª Patate ed erbe con lardo . . . . Grammi 1513
Pane. . . . . » 252
2ª Patate con lardo . . . . » 1135
Pane. . . . . » 204

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3104	930.25	283	63.06	2555

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	2173.75	219.94	—
Sostanze azotate	72.625	15.125	49.184
Grasso	20.31	8.42	—
Sostanze idrocarbonate.	776.235	30.575	—
Ceneri	61.08	8.94	—

TABELLA III.

Giorno 31 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 83.600.

Razione.

1ª Patate con lardo . . . . Grammi 1038
Pane. » 361
2ª Polenta di granturco e patate . . . . » 1615
Pane. » 90

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3104	1271. 08	253	47. 14	2772

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	1832. 92	205. 86	—
Sostanze azotate	64. 94	18. 95	53. 356
Grasso	20. 16	4. 53	—
Sostanze idrocarbonate	1127. 56	16. 42	—
Ceneri	58. 42	7. 24	—

TERZO PERIODO.

TABELLA I.

Giorno 1° febbraio 1901. Peso del corpo Kg. 83. 200.

Razione.

1ª Polenta di granturco e patate . . . . Grammi 2045
Pane. . . . . » 309
2ª Patate con lardo . . . . » 877
Pane. . . . . » 228

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3459	1251. 59	186	38. 96	3045

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	2207. 41	147. 04	—
Sostanze azotate	76. 625	13. 50	109 25
Grasso	23. 062	4. 21	—
Sostanze idrocarbonate.	1084. 883	14. 86	—
Ceneri	67. 02	6. 39	—

TABELLA II.

Giorno 2 febbraio 1901. Peso del corpo Kg. 83.500.

Razione.

1ª Patate con lardo	Grammi	1043
Pane	»	312
2ª Polenta di granturco e patate	»	1974
Pane	»	216

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3545	1150.58	292	42.93	2590

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	2 394.42	249.07	—
Sostanze azotate	80.56	13.875	48.056
Grasso	33.91	3.57	—
Sostanze idrocarbonate	980.29	17.339	—
Ceneri	55.82	8.146	—

TABELLA III.

Giorno 3 febbraio 1901. Peso del corpo Kg. 82.950.

Razione.

1ª Polenta di granturco e patate . . . . Grammi 1629
Pane . . . . » 298
2ª Patate con lardo . . . . » 991
Pane . . . . » 212

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3130	946.05	335	51.56	1892

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	2183.95	283.44	—
Sostanze azotate	84.687	29.787	53
Grasso	51.62	5.07	—
Sostanze idrocarbonate	761.899	8.583	—
Ceneri	47.844	8.12	—

TABELLA III.

Giorno 31 gennaio 1901. Peso del corpo Kg. 83.600.

Razione.

1ª Patate con lardo . . . . Grammi 1038
Pane. . . . . » 361
2ª Polenta di granturco e patate . . . . » 1615
Pane. . . . . » 90

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3104	1271. 08	253	47. 14	2772

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	1832. 92	205. 86	—
Sostanze azotate	64. 94	18. 95	53. 356
Grasso	20. 16	4. 53	—
Sostanze idrocarbonate	1127. 56	16. 42	—
Ceneri	58. 42	7. 24	—

TERZO PERIODO.

Tabella I.

Giorno 1° febbraio 1901. Peso del corpo Kg. 83.200.

Razione.

1ª Polenta di granturco e patate . . . . Grammi 2045
Pane. . . . . » 309
2ª Patate con lardo . . . . » 877
Pane. . . . . » 228

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
3459	1251.59	186	38.96	3045

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	2207.41	147.04	—
Sostanze azotate	76.625	13.50	109 25
Grasso	23.062	4.21	—
Sostanze idrocarbonate.	1084.883	14.86	—
Ceneri	67.02	6.39	—

TERZO QUADRO RIASSUNTIVO.

Periodo III.

Pasto		Feci		Orine
Umido	Secco	Umide	Secche	
Grammi	Grammi	Grammi	Grammi	Cmc.
10,134 / 3,378	3,348. 22	813 / 271	133. 45	7,527 / 2,509

Analisi.

	Pasto	Feci	Orine
	Grammi	Grammi	Cmc.
Umidità	6,785. 78 / 2,261. 926	679. 55 / 226. 516	—
Sostanze azotate	241. 872 / 80. 624	57. 162 / 19. 054	210. 306 / 70. 102
Grasso	108 592 / 36. 197	12. 85 / 4. 283	—
Sostanze idrocarbonate	2,827. 072 / 942. 357	40. 782 / 13. 594	—
Ceneri	170. 684 / 56. 898	22. 656 / 7. 552	—

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA

Nuovo modo di nascondere e di scoprire l'annacquamento del latte

Ricerche di **SCALA ALBERTO,** primo aiuto.

Tra i tanti mezzi, che l'industria, poco onesta, abbia escogitati per nascondere l'annacquamento del latte, uno ve ne ha, al quale non accenna alcun trattato e che, da qualche anno, si usa largamente qui in Roma. Voglio alludere alla *mescolanza di latte di vacca con latte di pecora ed acqua*, che, allorchè fatta in determinate proporzioni, ha la densità precisa del latte intero di vacca.

Il latte di pecora è notoriamente uno dei latti più ricchi di sostanze nutritive; è molto opaco e perciò volgarmente è chiamato *latte bianco;* ha una densità, una quantità di grasso ed una densità del siero che sono molto più elevate che nel latte di vacca, come dimostra la seguente tabella, ove sono raccolti i risultati delle analisi, da me eseguite, negli anni 1900 e 1901:

PROVENIENZA DEL LATTE	Densità a 15° C.	Densità del siero	Grasso °/₀
Roma	1.0390	1.0305	7.14
Id.	1.0399	1.0295	7.40
Id.	1.0390	1 0320	11.50
Id.	1.0380	1.0290	10.30
Id.	1.0395	1.0330	7.20
Id.	1.0378	1.0298	9.00
Id.	1.0408	1.0300	7.00

Quindi, apparisce chiaro il grande servigio che il latte di pecora rende ai venditori di latte; perchè esso fa elevare tanto la

densità del latte di vacca, al quale è mescolato, quanto la densità del siero, la quantità di grasso e la opacità. Ma una densità elevata ed una elevata quantità di grasso potrebbero dar sospetto della mescolanza; perchè, cotesti due dati analitici, trattandosi di latte di vacca, non conducono ad altra conclusione, non potendosi affatto parlare di scrematura. E per far ritornare al giusto valore la densità del latte, di cui sopratutto si impensieriscono i venditori, e per realizzare anche più lauti guadagni, nulla di meglio che l'aggiunta di una quantità di acqua, proporzionale all'aumento di densità e, per conseguenza, alla quantità di latte di pecora che è entrata nella mescolanza. Se però, così operando, si riesce a far rientrare nei limiti, noti per il latte di vacca, la densità della mescolanza, si disturba, facendola uscire dai suoi limiti, la densità del siero, che, come in tutte le sofisticazioni del latte, ha anche qui una grandissima importanza. E che veramente sia così, si può rilevare dalle analisi di varie mescolanze, da me fatte, di cui i dati si trovano nella seguente tabella:

Densità del latte di pecora	Densità del latte di vacca	Proporzione della mescolanza %	Densità della mescolanza	Acqua aggiunta %	Densità del latte annacquato	Densità del siero
1.0390	1.0339	50.0	1.0366	25	1.0290	1.0238
1 0390	1.0295	33.5	1.0325	10	1.0299	1.0250
1.0399	1.0297	20.0	1.0318	10	1.0286	1.0250
1.0408	1.0310	15.0	1.0330	10	1.0300	1.0252

Dunque, non vi ha mescolanza possibile da cui si possa avere un siero con una densità che non vada al disotto del limite minimo, ormai accettato quasi universalmente, di 1027.

E che nel commercio lattiero di Roma si trovino veramente di queste mescolanze, si può vedere dalle analisi di vari campioni di latte che ho avuto occasione di ricevere nel corrente anno, ove la densità del latte non si trova in relazione colla densità del siero e colla quantità di grasso, in modo da non poter sospettare che si tratti di latte annacquato puramente e semplicemente e nemmeno di latte scremato ed annacquato o di latte scremato soltanto.

Ecco le analisi:

Densità del latte	Densità del siero	Grasso °/.	Densità del latte	Densità del siero	Grasso °/.
1. 0299	1. 0248	3. 30	1. 0337	1. 0293	3. 20
1. 0284	1. 0238	3. 20	1. 0350	1. 0299	3. 34
1 0299	1. 0250	2. 95	1. 0369	1. 0289	3. 35
1. 0311	1. 0253	3. 30	1. 0403	1. 0289	2. 80
1. 0296	1. 0250	3. 50	1. 0379	1. 0301	2. 90
1. 0294	1. 0259	3. 00	1. 0350	1. 0289	2. 80
1. 0300	1. 0250	3. 75	1. 0364	1. 0300	3. 20
1. 0283	1. 0244	3. 60			

Si deve concludere perciò che i latti a sinistra, nella precedente tabella, siano delle vere mescolanze di latte di vacca, pecora ed acqua; che i latti a destra siano delle mescolanze di latte scremato di vacca con latte di pecora.

Per iscoprire coteste mescolanze, basta, come si è visto, ricorrere agli ordinari processi analitici: una conferma però si può avere dalla *caseasi*, una diastasi, solubile nell'acqua, che ha un'azione solvente sulla caseina di vacca esclusivamente. Essa, cioè, in condizioni opportune, digerisce, con grandissima rapidità, la caseina di vacca e, con grandissima lentezza, la caseina di donna, di pecora e di altri animali; tanto da sembrare che non la digerisca affatto. Questa proprietà che sembra strana in una diastasi solvente, abituati alla universalità d'azione, non è che un fatto naturalissimo e di cui in seguito si conoscerà la ragione recondita; perchè ogni piccolo lattante, di una data specie, ha nel suo pancreas una caseasi capace di digerire la caseina del latte di cui si nutrisce e quella di cui io parlo, proviene dal pancreas di vitelli; onde la sua specificità sulla caseina di vacca. Perciò non si andrà molto lungi dal vero se si supponga che la caseina nel latte dei diversi animali sia diversa, poichè non deve esistere corrispondenza geometrica nella configurazione molecolare tra caseina e diastasi nei latti diversi da quello di vacca, per cui non è possibile il contatto tra molecola e molecola e, per conseguenza, la dissoluzione di certi legami che portano per effetto la digestione. Un'altra ragione che conforta cotesta supposizione è la diversità che sembra esistere tra lo zucchero di latte nei vari animali, giudicandola dai risultati delle esperienze di Carles e Richmond e poi di Michel, secondo le quali il potere rotatorio specifico dello zucchero di latte di donna sarebbe di 48. 7, diverso da quello del latte di vacca che è di 52. 53.

Quindi introdurre nello stomaco un latte piuttosto che un altro non è cosa indifferente per la nutrizione sia dei piccoli che dei grandi, perchè dalla qualità della caseina e dalla natura dei fermenti che esistono nello stomaco e nel pancreas dipende la digeribilità ed il buono e regolare andamento dei processi assimilatori.

Per servirsi utilmente della caseasi collo scopo di conoscere se ad un latte di vacca sia stato aggiunto latte di pecora, si coagula il latte con acido acetico a caldo, come si fa per la determinazione della densità del siero, si raccoglie il coagulo ed un pezzetto, della grandezza di un fagiuolo, si mette in un tubo da saggio. Si aggiungono 10 cmc. di acqua, 4 o 5 gocce di soluzione di carbonato di soda da comunicare al liquido reazione decisamente alcalina, uno o due centigrammi di caseasi; si mescola ben bene e si mette in termostato a 37° C. Dopo due o tre ore, il coagulo, se di caseina di vacca, è completamente disciolto, se di pecora, rimane indisciolto.

La caseasi rende anche ottimi servigi quando si voglia conoscere se la pasta di un formaggio sia composta di tutta caseina di vacca o mescolata a caseina di pecora. Si grattuggia il formaggio, si digrassa con etere, si fa seccare all'aria, se ne pesa un grammo, e si spappola in un mortaio con 10 cmc. d'acqua. La mescolanza si mette in un tubo da saggio, si alcalinizza con carbonato di sodio, si aggiungono centgm. 5 di caseasi e si mette in termostato a 37° C. ove si lascia per 2 o 3 ore. Il formaggio di vacca, dopo questo tempo è completamente digerito, quello di pecora, invece, quasi completamente indigerito. Nel tubo contenente formaggio di vacca si ha un liquido lattiginoso, uniforme ed un piccolo deposito di sostanza minerale; nel tubo contenente formaggio di pecora invece un liquido chiaro con un abbondante deposito fioccoso.

Infine la caseasi può servire per conoscere se un burro sia di vacca o di ricotta di pecora. Si fa filtrare a caldo, si raccoglie la caseina rimasta nel filtro, si disgrassa con etere e si tratta come è stato detto pel formaggio.

Conclusione.

La sofisticazione del latte di vacca con latte di pecora, con o senza aggiunta di acqua, si scopre cogli ordinari processi analitici indirettamente: si scopre direttamente, approfittando della proprietà che ha la caseasi di digerire o sciogliere in modo completo, ed in tempo breve, la caseina di vacca e di digerire, con grandissima lentezza, la caseina di pecora.

Istituto d'Igiene della R. Università di Padova

Sull'importanza dei sigari e specialmente dei mozziconi di essi nella diffusione della tubercolosi.

Ricerche sperimentali del dott. **LUIGI PESERICO**, aiuto.

Per poter fare una buona profilassi di una malattia infettiva bisogna conoscerne tutte le vie e i mezzi di diffusione. Così le une come gli altri sono, per la tubercolosi, molteplici e svariatissimi, e hanno importanza notevolissima quelli che in modo diretto o indiretto possono facilitare il passaggio del germe dalla bocca del malato a quella del sano.

Uno di questi mezzi è certo il mozzicone di sigaro fumato da tisici, di cui non s'è in modo diretto occupato il Kerez (1) nelle sue ricerche intorno « *all'influenza del tabacco sul bacillo della tubercolosi* », perchè esso offre senza dubbio maggiori pericoli di quelli inerenti, pel metodo stesso di fabbricazione, al sigaro come viene dall'appalto.

Infatti il mozzicone di sigaro da una parte passa spesso quasi immediatamente dalla bocca del primo a quella del secondo fumatore, dall'altra, restando a lungo nella bocca del primo fumatore, viene abbondantemente ed intimamente impregnato di saliva e dei microrganismi in essa contenuti.

Io ho quindi creduto opportuno di fare oggetto di speciali ricerche i mozziconi di sigari.

Considerando però la pessima abitudine, che dai tabaccai dovrebbe essere combattuta, di provare colla bocca se il sigaro *tira più o meno bene*, ed inoltre il modo di fabbricazione dei sigari stessi, che permette l'impiego della saliva per arrotolare e fissare le foglie superficiali, ho voluto estendere le mie ricerche anche ai sigari

(1) H. Kerez. *Ueber den Einfluss des Tabaks auf den Tuberkelbacillen.* Centralblatt für Bacteriologie, 1894, XV Band, Seit 57.

come si hanno nelle rivendite, in modo speciale in rapporto alla tubercolosi, ed in modo generale in rapporto ai microrganismi che vi si possono annidare, pel numero dei quali non vi è che un semplice accenno nel lavoro del Wernicke « *sul modo di comportarsi del vibrione del colera in contatto con le foglie di tabacco e coi sigari* » (1).

***

Considerando che nell'atto del fumare si mettono in contatto colla mucosa del fumatore nello stesso tempo i microrganismi eventualmente esistenti nel sigaro e il tabacco, io ho voluto esperimentare inoculando negli animali le foglie stesse del tabacco, per mantenere appunto, quanto più mi era possibile, tale rapporto come si avvera in pratica.

A tale scopo ho dovuto previamente persuadermi che, inoculando sottocute pezzi di tabacco, l'animale da esperimento non venisse a risentirne effetti nocivi. Inoculai quindi a due cavie *pezzetti di tabacco sterilizzato* e queste vivono tuttora e non hanno mai avuta sofferenza alcuna.

Ed inoltre, allo scopo di provare previamente se i germi patogeni in genere, quando vengano inoculati insieme col tabacco, conservino la loro azione patogena, inoculai sottocute di due cavie *dei pezzettini di tabacco* impregnati di sangue di coniglio morto *di carbonchio* in seguito ad inoculazione con coltura virulentissima. *Una delle cavie morì dopo 48 ore, l'altra dopo 56 ore e nel sangue di entrambe si riscontrò il germe specifico.*

Infine, per persuadermi che lo stesso si avverava col *bacillo della tubercolosi*, che doveva formare oggetto speciale delle mie ricerche, ho inoculato pezzetti di tabacco impregnati di sputo, nel quale l'esame microscopico aveva accertata la presenza di abbondanti bacilli tubercolari, a cinque cavie, ottenendo i seguenti risultati:

Cavia 1ª muore dopo 82 giorni. Tubercolosi generale e locale.
Cavia 2ª muore dopo 150 giorni. Tubercolosi polmonale.
Cavia 3ª uccisa dopo 85 giorni. Tubercolosi generale e locale.
Cavia 4ª uccisa dopo 85 giorni. Tubercolosi generale e locale.
Cavia 5ª uccisa dopo 85 giorni. Tubercolosi locale.

Avverto che con la locuzione *tubercolosi locale*, che per brevità adopererò anche in seguito, intendo la tubercolosi sviluppatasi in modo notevole nella località dell'inoculazione.

---

(1) WERNICKE. *Bemerkungen über das Verhalten der Kommabacillen der Cholera asiatica in Berührung mit Tabaksblättern und Cigarren.* Hygienische Rundschau, II Iahrgang, 1892, S. 917.

Mi sono così persuaso che la *coesistenza del tabacco col bacillo della tubercolosi sottocute di cavie non toglie a quest'ultimo la sua virulenza.*

***

Passando quindi allo studio prefissomi, *ho fatto fumare da tisici*, nel cui espettorato era stata accertata la presenza del bacillo tubercolare, sigari con paglia, senza paglia e sigarette.

I. Dei rispettivi mozziconi alcuni furono subito (nello stesso giorno) inoculati sottocute a cavie adoperando, com'era naturale, quella parte di essi che fu tra le labbra.

E precisamente:

a) Pezzetti di tabacco tolto da mozziconi di sigari *con paglia* fumati da tisici:
Cavie inoculate n. 4. Di queste la
1ª morì dopo 4 giorni. Cocciemia.
2ª morì dopo 11 giorni. Causa ignota.
3ª morì dopo 120 giorni. Tubercolosi generale.
4ª morì dopo 135 giorni. Epidemia da cavicida.

b) Pezzetti di tabacco tolto da mozziconi di sigari *senza paglia* fumat da tisici:
Cavie inoculate n. 3. Di queste la
1ª è uccisa dopo 124 giorni. Tubercolosi generale.
2ª è uccisa dopo 124 giorni. Sana.
3ª è uccisa dopo 124 giorni. Tubercolosi generale.

c) Pezzetti di tabacco tolto da mozziconi di *sigarette* fumate da tisic i
Cavie inoculate n. 6 delle quali la
1ª morta dopo 8 giorni. Causa ignota.
2ª morta dopo 9 giorni. Stafilococco piogeno aureo.
3ª muore dopo 10 giorni e si riscontra nella ferita e nei tessuti circostanti e nella milza lo streptococco piogeno.
4ª muore dopo 35 giorni. Causa ignota.
5ª muore dopo 135 giorni. Epidemia da cavicida.
6ª viene uccisa dopo 174 giorni. Tubercolosi diffusa.

Non prendendo in considerazione le cavie morte avanti i 15 giorni dal dì dell'inoculazione, noi vediamo che *il 50 °/₀ degli animali inoculati* subito *con pezzettini di sigari fumati da tisici contrae la tubercolosi.* Ciò, come del resto doveva presupporsi, dimostra che i sigari fumati da tisici possono essere un mezzo di diffusione della tubercolosi.

***

II. Altri mozziconi dei sigari fumati da tisici sono stati *mantenuti all'asciutto* (ambiente comune) per lo spazio di 15-20 giorni ed in seguito inoculati alle cavie.

E precisamente:

a) Pezzetti di tabacco tolto da mozziconi di *sigari con paglia*.
Inoculate cavie n. 3. Di queste la
1ª morta dopo 50 giorni. Tubercolosi diffusa.
2ª Uccisa dopo 150 giorni. Sana.
3ª Uccisa dopo 150 giorni. Sana.

b) Pezzetti di tabacco tolto da mozziconi di *sigari senza paglia*.
Inoculate cavie n. 4. Di queste la
1ª morta dopo 70 giorni. Tubercolosi generale.
2ª muore dopo 74 giorni. Epidemia da cavicida.
3ª muore dopo 74 giorni. Epidemia da cavicida.
4ª viene uccisa dopo 87 giorni. Tubercolosi diffusa.

Ho trascurato le sigarette perchè i mozziconi di queste in pratica non vengono conservati.

Dai risultati sopra esposti appare che *il conservare un mozzicone per qualche tempo nell'ambiente comune asciutto non gli toglie la capacità di trasmettere la tubercolosi.*

III. Altri mozziconi dei sigari fumati da tisici, e precisamente dei sigari *con paglia*, furono inoculati dopo esser stati mantenuti *per 20 giorni all'umido e all'oscuro.*

E precisamente con pezzetti di tabacco tolto da tali mozziconi vennero inoculate:

Cavie n. 3. Di queste la
1ª morì dopo 20 giorni. Pneumonite.
2ª morì dopo 99 giorni. Epidemia da cavicida.
3ª morì dopo 155 giorni. Causa ignota.

Pur tenendo conto dello scarso numero di animali messi in esperimento, si deve tuttavia notare che *nessuno di questi presentò una forma tubercolare nè locale, nel punto di inoculazione, nè viscerale.*

Fatto questo che merita di esser tenuto in considerazione.

IV. Alcuni infine dei mozziconi di sigari fumati da tisici sono stati inoculati *dopo esser stati tenuti per 20 giorni nelle condizioni comuni della via*, durante il quale tempo cadde su di essi anche la pioggia e la neve.

E precisamente furono inoculate 5 cavie. Di queste la
1ª morì dopo 63 giorni. Causa ignota.
2ª morì dopo 66 giorni. Ostruzione intestinale.
3ª morì dopo 64 giorni. Epidemia da cavicida.
4ª viene uccisa dopo 110 giorni. Sana.
5ª viene uccisa dopo 110 giorni. Sana.

Anche da questi esperimenti risulta che i *mozziconi di sigari fumati da tisici e tenuti in condizioni di umidità non pare riescano a trasmettere la malattia agli animali di esperimento con essi inoculati.*

***

Assodato così che i mozziconi di sigari fumati da tisici, specialmente se recenti o mantenuti in luogo asciutto, sono una via di diffusione del *bacillo della tubercolosi* che in essi si trova vivo e virulento, sono passato ad esaminare i *mozziconi di sigari che si raccolgono sulla strada e nei caffè.*

Con tabacco tolto da tali mozziconi furono inoculate 19 cavie e precisamente:

a) Tabacco tolto da mozziconi di sigari e sigarette raccolte *nella via:*
Cavia 1ª tabacco da sigaro, uccisa dopo 180 giorni. Sana.
Cavia 2ª tabacco da sigaro, uccisa dopo 180 giorni. Sana.
Cavia 3ª tabacco da sigaretta, morta dopo 40 giorni. Causa ignota.
Cavia 4ª tabacco da sigaretta, morta dopo 65 giorni. Epidemia da cavicida.
Cavia 5ª tabacco da sigaretta, morta dopo 66 giorni. Epidemia da cavicida.
Cavia 6ª tabacco da sigaretta, morta dopo 66 giorni. Epidemia da cavicida.

b) Tabacco tolto da mozziconi di sigari e sigarette raccolti nei *caffè.*
Cavia 1ª tabacco da sigari, uccisa dopo 122 giorni. Sana.
Cavia 2ª tabacco da sigari, morta dopo 7 giorni. Causa ignota.
Cavia 3ª tabacco da sigari, morta dopo 29 giorni. Causa ignota.
Cavia 4ª tabacco da sigari, morta dopo 30 giorni. Sporospermosi.
Cavia 5ª tabacco da sigari, morta dopo 106 giorni. Epidemia da cavicida.
Cavia 6ª tabacco da sigari, morta dopo 110 giorni. Epidemia da cavicida.
Cavia 7ª tabacco da sigari, morta dopo 112 giorni. Epidemia da cavicida.
Cavia 8ª tabacco da sigari, uccisa dopo 120 giorni. Sana.
Cavia 9ª tabacco da sigarette, uccisa dopo 124 giorni. Sana.
Cavia 10ª tabacco da sigarette, uccisa dopo 124 giorni. Sana.
Cavia 11ª tabacco da sigarette, morta dopo 4 giorni. Stafilococco piogeno aureo.

Cavia 12ª tabacco da sigarette, morta dopo 7 giorni. Stafilococco piogeno aureo.
Cavia 13ª tabacco da sigarette, morta dopo 122 giorni. Epidemia da cavicida.

I risultati quindi delle ricerche sul contenuto del bacillo della tubercolosi nei mozziconi di sigari raccolti nelle vie e nei caffè sono negativi. Considerando però il risultato delle precedenti ricerche e il numero non grande di questi ultimi esperimenti (19) si deve però conchiudere solamente che esso *non vi si rinviene frequentemente, ma che vi si può trovare.*

***

Infine, per espletare il compito prefissomi relativamente ai sigari delle rivendite, ho inoculato 10 cavie, e cioè 5 con tabacco tolto da *sigari con paglia* provenienti dalla rivendita e 5 con tabacco tolto da *sigari senza paglia* di eguale provenienza ed ho ottenuto i seguenti risultati:

a) Tabacco da *sigari con paglia:*
Cavia 1ª uccisa dopo 124 giorni. Sana.
Cavia 2ª uccisa dopo 124 giorni. Sana.
Cavia 3ª uccisa dopo 124 giorni. Sana.
Cavia 4ª morta dopo 79 giorni. Pneumonite.
Cavia 5ª morta dopo 80 giorni. Epidemia da cavicida.

b) Tabacco da *sigari senza paglia:*
Cavia 1ª morta dopo 79 giorni. Epidemia da cavicida.
Cavia 2ª morta dopo 82 giorni. Causa ignota.
Cavia 3ª uccisa dopo 124 giorni. Sana.
Cavia 4ª morta dopo 112 giorni. Epidemia da cavicida.
Cavia 5ª morta dopo 112 giorni. Epidemia da cavicida.

Nei sigari della rivendita dunque non ho riscontrato il bacillo della tubercolosi.

***

Siccome è risultato da queste mie ricerche da una parte che i sigari fumati da tisici mantenuti per oltre due settimane all'asciutto si mostrarono infettanti (ciò che è contrario al risultato delle ricerche di Kerez sopra citate, il quale, veramente con minor numero di esperienze venne alla conclusione che i sigari artificialmente impregnati con sputo tubercolare si mantengono infettanti per le cavie solo fino a 10 giorni), e dall'altra che invece i sigari stessi tenuti all'umido e all'oscuro (condizioni che dovrebbero essere favorevoli

alla vita del germe) non dimostrarono tale proprietà, come non la dimostrarono quelli esposti alle condizioni della via; così ho voluto persuadermi *se mai il tabacco posto in condizioni di umidità lasci disciogliere delle sostanze capaci di togliere la virulenza al bacillo della tubercolosi.*

A tale scopo io ho voluto mantenere lo sputo tubercolare in contatto con quelle sostanze che possono trovarsi disciolte in un infuso di tabacco. Ho quindi emulsionato nel detto infuso dello sputo in cui avevo riscontrato numerosi i bacilli tubercolari e quindi ho fatto delle inoculazioni con esso in tempo differente e cioè immediatamente dopo fatta l'emulsione e 3, 5, 8, 10 giorni dopo.

Sebbene dal lavoro del Kerez, il quale per le sue esperienze non ha inoculato negli animali il tabacco in pezzetti, ma l'infuso, risulti che questo sia senza reazione fintanto che non vi sieno frammiste particelle di foglie di tabacco, pure io ho voluto persuadermene con mie proprie esperienze. E non del tutto conformemente ai risultati del Kerez, ho trovato che *l'infuso di tabacco, filtrato e sterilizzato previamente, inoculato sottocute di due cavie ha in tutte due prodotto malessere evidente, che scomparve in breve; che inoculato nel peritoneo di altre due cavie ha prodotto quasi immediatamente sintomi di paresi, specialmente degli arti posteriori, i quali in ambedue gli animali però scomparvero completamente dopo qualche ora.*

Passando quindi agli esperimenti con l'*infuso contenente emulsionato lo sputo tubercolare*, ho ottenuti i seguenti risultati:

I. Inoculazione sottocute di cavie con infuso di tabacco contenente emulsionato *da poche ore* sputo certamente tubercolare. Cavie numero nove:

1ª morta dopo 10 giorni. Peritonite.
2ª morta dopo 30 giorni. Tubercolosi diffusa.
3ª morta dopo 33 giorni. Tubercolosi generale e locale.
4ª morta dopo 70 giorni. Tubercolosi generale.
5ª uccisa dopo 72 giorni. Tubercolosi locale (punto d'innesto).
6ª uccisa dopo 72 giorni. Tubercolosi generale.
7ª uccisa dopo 72 giorni. Tubercolosi generale.
8ª uccisa dopo 72 giorni. Tubercolosi generale.
9ª uccisa dopo 72 giorni. Tubercolosi generale.

II. Inoculazione sottocute di cavie di infuso di tabacco contenente sputo tubercolare emulsionato da *tre giorni.*

Cavie numero *quattro*:

1ª uccisa dopo 92 giorni. Tubercolosi generale e locale.
2ª morta dopo 80 giorni. Tubercolosi polmonale.
3ª morta dopo 62 giorni. Tubercolosi generale.
4ª uccisa dopo 92 giorni. Sana.

III. Inoculazione sottocute di cavie di infuso di tabacco contenente sputo tubercolare emulsionato da *cinque* giorni.

Cavie numero *quattro:*

1ª uccisa dopo 89 giorni. Sana.
2ª uccisa dopo 89 giorni. Sana.
3ª uccisa dopo 89 giorni. Tubercolosi generale e locale.
4ª uccisa dopo 89 giorni. Tubercolosi locale evidentissima.

IV. Inoculazione sottocute di cavie di infuso di tabacco contenente sputo tubercolare emulsionato da *otto* giorni.

Cavie numero *quattro:*

1ª uccisa dopo 87 giorni. Sana.
2ª uccisa dopo 87 giorni. Sana.
3ª morta dopo 59 giorni. Tubercolosi generale.
4ª uccisa dopo 87 giorni. Sana.

V. Inoculazione sotto cute di cavie con infuso di tabacco contenente sputo tubercolare emulsionato da *dieci* giorni.

Cavie numero *quattro:*

1ª 2ª 3ª 4ª uccise dopo 85 giorni si riscontrarono tutte perfettamente sane.

Da queste esperienze risulta che la virulenza del germe va diminnuendo progressivamente fiuo a spegnersi al decimo giorno. Ciò è conforme anche ai risultati ottenuti dal Kerez.

Questo dà diritto a ritenere che nel tabacco vi siano sostanze che sciolte in acqua, per se stesse o per la loro reazione, possono esercitare una influenza deleteria sul bacillo tubercolare.

Ora essendo le foglie del tabacco notevolmente igroscopiche, si spiega come, mantenute in luogo umido, possano assorbire dell'acqua sufficiente per manifestare tale azione.

***

Siccome parecchi degli animali in esperimento sono morti per altre malattie infettive, compreso uno inoculato con tabacco da sigari comperati alla rivendita che morì di pneumonite, così ho voluto completare queste mie ricerche con *un esame batteriologico generale dei sigari comperati nelle rivendite.*

A tale scopo ho riempito il fondo di provette sterili con circa 3 cmc. di acqua sterile, ho fatto cadere tagliuzzata finamente tutta quella parte di sigaro che può capitare in bocca, e dopo aver agitato lungamente tutto il contenuto della provetta ho fatto con la parte liquida piastre in gelatina, che furono esaminate dopo esser

state tenute nel termostato a 20° per 5 giorni. I sigari furono comperati alla rivendita e presi da scatole appena aperte.

Ed ora ecco i risultati ottenuti:

SIGARI SELLA.

Piastra 1ª Muffe (pennicillum) colonie 25. Cocchi colonie 5. Bacillo patate colonie 2.

Piastra 2ª Nessuna colonia.

Piastra 3ª La gelatina della capsula è fusa ed in essa si vedono nuotare delle colonie gialliccie rotonde date da cocchi, mentre il fondente è il bacillo delle patate.

Piastra 4ª Tutta uniformemente fusa. Bacillo delle patate.

Piastra 5ª Muffe colonie 6 (pennicillum). Cocchi colonie 9. Una parte della gelatina al margine della piastra è fusa da bacillo delle patate.

Piastra 6ª Muffe colonie 10. Cocchi colonie 3. Bacilli fondenti colonie 3.

Piastra 7ª Fusione completa uniforme da bacillo delle patate.

Piastra 8ª Muffe colonie 2 nuotanti nella gelatina uniformente fusa.

Piastra 9ª Muffe colonie 2. Fusione del resto. Una colonia di proteo volgare.

Piastra 10ª Muffe colonie 1.

SIGARETTE.

Piastra 1ª Innumerevoli colonie di muffe nuotanti nella gelatina fluidificata dal bacillo delle patate.

Piastra 2ª Fluidificazione completa da bacillo delle patate.

Piastra 3ª Muffe colonie 62 (prevalentemente pennicillum). Cocchi colonie innumerevoli, qualche punto fluidificato.

Piastra 4ª Muffe colonie 17. Una colonia di proteo volgare. Cocchi colonie 2.

Piastra 5ª Muffe colonie 46 nuotanti su gelatina fluidificata.

Piastra 6ª Ammassi di muffe nuotanti su gelatina fluidificata.

Piastra 7ª Colonie fondenti 3. Bacilli patate.

Piastra 8ª Muffe colonie 3. Colonie fondenti 6. Cocchi 4 (p. aureus et albus).

Piastra 9ª Muffe colonie 132 nuotanti sulla gelatina fluidificata dal bacillo delle patate.

Piastra 10ª Muffe colonie 1. Cocchi. Colonie 3. Proteus vulgaris. Colonie 1.

Piastra 11ª Bacillo patate. Colonie 2.

Piastra 12ª Bacillo patate. Colonie 2.

Piastra 13ª Muffe colonie 1. Bacillo patate colonie 4.

Piastra 14ª Bacillo patate colonie 9. Cocchi (p. aureus) colonie 1.

Piastra 15ª Muffe colonie 32. Cocchi (piog. albus) colonie 1.

SIGARI VIRGINIA.

Piastra 1ª Muffe colonie 2. Bacillo patate colonie 1.

Piastra 2ª Muffe colonie 3. Cocchi (p. aureus) colonie 1. Bacillo patate colonie 1.

Piastra 3ª Fusione completa della gelatina. Muffe colonie 1.

Piastra 4ª Bacillo patate colonie 2.

Piastra 5ª Muffe colonie 4. Cocchi (p. aureus) colonie 1. Bacillo patate colonie 1.

Piastra 6ª Muffe colonie 3.

Piastra 7ª Muffe colonie 1.

Piastra 8ª Muffe colonie 6. Bacillo patate colonie 1.

Piastra 9ª Muffe colonie 2.

Piastra 10ª Cocchi colonie 3. Bacillo patate colonie 1.

SIGARI TOSCANI.

Piastra 1ª Muffe colonie 11. Bacillo patate colonie 3.

Piastra 2ª Muffe colonie 4. Cocchi (p. aureus) colonie 1. Bacillo patate colonie 1.

Piastra 3ª Cocchi (piogeni) colonie 5. Muffe colonie 1.

Piastra 4ª Fusione completa della piastra. Nuotano sulla gelatina 3 colonie di piogenes aureus.

Piastra 5ª Muffe colonie 7. Cocchi colonie 2. Bacilli patate colonie 2.

Da tali ricerche risulta quindi che il bacillo delle patate nonchè le muffe (pennicilli) si riscontrano quasi sempre in tutte le qualità di sigari e sigarette; vengono poi molto meno frequenti i cocchi piogeni e solo qualche volta il proteo volgare. Il numero totale, però, dei microbi risulta essere minore di quello che apparve al Wernicke, il quale nel citato lavoro si limitò ad affermare di aver trovato che il contenuto batterico dei sigari *è alquanto alto.*

***

Dalle ricerche istituite nel presente lavoro si possono trarre le seguenti conclusioni:

1. I mozziconi di sigari fumati da tisici possono trasmettere la tubercolosi con sicurezza immediatamente dopo fumati ed anche fino a due settimane, se tenuti in luogo asciutto.

2. Essi possono perdere dopo una decina di giorni tale facoltà infettante se mantenuti all'umido, perchè pare che l'acqua disciolga dal tabacco delle sostanze che tolgono la virulenza, se non la vitalità, al germe tubercolare.

3. Per quanto risulta dalle non certo numerose esperienze, sui mozziconi raccolti nelle vie e nei caffè, le quali riuscirono tutte negative, il pericolo della trasmissione della tubercolosi a mezzo di essi è relativamente minimo anche a Padova, dove purtroppo la statistica della tubercolosi è oltremodo elevata.

4. Le ricerche con sigari comperati alla rivendita non diedero risultati positivi riguardo alla presenza in essi del bacillo della tubercolosi.

5. Il contenuto di germi nei sigari e nelle sigarette non risulta molto grande nè svariato. Muffe e bacilli delle patate tengono il primo posto; vengono poi qualche proteo e cocchi piogeni, la cui presenza forse può spiegare alcune forme suppurative, delle quali talvolta i fumatori sogliono incolpare i sigari.

Padova, novembre 1901.

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA.

Sui costumi delle larve delle zanzare del genere Anopheles

in relazione con le bonifiche idrauliche

Memoria II di E. PERRONE
dell'ufficio d'idraulica del Ministero di Agricoltura.

Le ricerche sui costumi delle zanzare anofele in relazione con la malaria, fatte nel 1900 (1), sebbene numerose ed estese a grande superficie, non furono complete perchè non solo con esse non erano state esplorate le regioni più calde dell'Italia, ma anche perchè avevano avuto uno scopo alquanto limitato, quello cioè di riconoscere in quali acque le larve di quell'insetto potevano prosperare, ossia se in acque ferme o mosse, limpide, torbide o fangose, comuni o mineralizzate.

Altri problemi perciò richiamavano l'attenzione e primo fra tutti quello di determinare il grado di salsedine delle acque stesse (2), mediante le analisi chimiche e non soltanto giudicando dai caratteri organolettici, come era stato praticato l'anno decorso.

Queste analisi, eseguite l'anno 1901, rimasero però limitate alla determinazione dei cloruri, perchè in nessun'acqua in altro modo

(1) Questi Annali vol. XI, 1901.

(2) Su quest'argomento (come del resto su tutto quanto riguarda la malaria) il Celli aveva fatto osservazioni particolareggiate, come rilevasi dalle sue pubblicazioni « La Malaria secondo le nuove ricerche, 1900 ». — « Malaria e Bonifiche, 1901 ». Egli però volle che le sue conclusioni fossero avvalorate dall'esplorazione di quasi tutto il litorale del continente e da ciò l'incarico dato allo scrivente e la ragione della presente Memoria. Anche il Ficalbi si è molto occupato a Cervia e Comacchio della stessa questione.

mineralizzata, tranne quelle alcaline, furono mai rinvenute larve di anofele.

Quindi nuovi studi si presentavano e la necessità di continuare le investigazioni in altre parti del regno e di estenderle ad altri argomenti affini, e più particolarmente a quello sugli effetti delle attuali bonificazioni dei laghi salati, degli stagni e degli impantanamenti lungo le spiagge, in rapporto alle recenti scoperte sul modo di inoculazione delle febbri malariche.

Come subito appare, molto esteso era il campo delle ricerche ancora da farsi e superiore a quello di una sola campagna che comprende l'estate e parte dell'autunno e perciò neppure in quest'anno il cómpito che il professor Celli volle continuare ad affidarmi, fu potuto esaurire, contrariato, come fui, dalle frequenti intemperie che resero incerti i risultati in molte località, costringendo a ripetere i sopraluoghi ed a limitare le ispezioni alla parte meridionale della penisola, rimandando all'anno venturo le ricerche nelle isole e specialmente nella Sardegna, la quale per le sue particolari condizioni richiede indagini minuziose e lunghe.

PRELIMINARI.

Sebbene fosse intendimento di rivolgere tutta l'attenzione allo studio delle acque più o meno salate, per riconoscere l'estremo grado di salsedine in cui le larve possono vivere, pure, avendo avuto occasione di percorrere località molto diverse per posizione ed altitudine, estesi le ricerche alle acque di qualsiasi genere, incontrate nelle escursioni.

Riservandomi di presentare infine un diario delle località ove furono rinvenute larve, comincio con indicare le regioni esplorate, e cioè:

***

Fiume Arno. — Arno del Casentino - Val di Chiana - Sieve - Bisenzio - Ombrone Pistoiese - Pianure di Fucecchio e di Bientina.

Serchio. — Bassa valle del Serchio - Monte Pisano.

Bonifica di Scarlino, presso Follonica e suo bacino. Sorgenti calde di Gavorrano.

F. Bruna. — Lago dell'Accesa.

Fiume Tronto. — Sorgenti di Accumoli, di Arquata, ecc. - Sorgenti solfuree di Acquasanta e di Castel Trosino - Alvei del Tronto e degli influenti principali - Altre località.

Fiume Vomano.

Fiume Tordino.

F. Sangro. — Regioni di montagna e di pianura - F. Zittola e torbiera di Montenero, sorgenti di ogni genere.

Fiume Trigno.

Litorale Adriatico. — Esplorazioni lungo la costa e presso le foci dei corsi d'acqua.

Laghi salati di Lesina, di Varano, Salso, di Salpi e loro bacini.

Regi Lagni di Caserta - Acque dolci e solfuree di **Telese,** Fiume **Calore** a Benevento – Valle del **Sarno.**

Stagni di Lecce, stagni, spiagge e foci del litorale **Ionio** - **Fiume Mesima** e pianura di **Rosarno** - Pianura di **Sant'Eufemia,** litorale di Paola, pianure di **Battipaglia** e fiumi **Sele** e **Tusciano.**

Maggiormente si sarebbero estese le esplorazioni tanto nelle parti più interne dei bacini, quanto ad un maggior numero di foci, se le frequenti e molte volte dirottissime piogge, non avessero spazzato completamente gli alvei ed anche i pantani, asportando ogni cosa e rendendo erronee le conclusioni alle quali si sarebbe pervenuti.

Dal complesso delle ricerche rimasero confermate intanto le caratteristiche sui costumi delle larve dei culici e delle anofele già riconosciute nel 1900 e propriamente:

1) *Che le larve del genere* **anopheles** *non vivono nelle acque in moto, nè in quelle salate e dei maceratoi delle piante tessili;*

Non vivono presso la foce dei corsi d'acqua;

Vivono invece in qualunque acqua ferma che non sia solfurea o salata o di maceratoio, preferendo quelle con erbe; a quote fino oltre i m. 1300, ed a temperature fra gli 8° 5 ed i 31°;

2) *Che le larve del genere* **Culex,** *seguono completamente le abitudini del genere precedente, e per di più vivono pure nelle acque solfuree* (debolmente mineralizzate) *e con grande predilezione in quelle putride dei maceratoi.*

Inoltre nell'anno 1901 si poterono conseguire altre cognizioni in proposito e specialmente sulle condizioni delle campagne che più si prestano alla vita delle larve.

Le esponiamo con brevi parole:

a) « *Le larve di* anofele *e di* culici *si trovano in ottime condizioni ad oltre m. 1500 sul mare ed anche in acque a temperatura inferiore ai 4 centigradi.* »

Relativamente all'altitudine a cui le larve delle anofele si spingono non si è ancora in grado di stabilire in Italia il limite estremo, poichè attorno al Gran Sasso ed al gruppo dei Monti Sibillini, che sono i più alti monti fra i quali si fecero ricerche, non si trovarono, nelle escursioni fattevi, acquitrini o acque in condizioni favorevoli al disopra di m. 1500, per cui non si sa se le larve possono vivere a quota più elevata.

In quanto alla temperatura, siccome è difficile trovare acque ferme a meno di 4°, e siccome è probabile che quelle esplorate, prossime a tale temperatura, ove vivevano larve di anofele, abbiano durante la notte risentito alla superficie temperatura più fredda ancora e forse pure un principio di congelamento, così sembra provato che le larve possono vivere anche a qualche grado appena sopra zero.

b) *Le boscaglie, quando fra esse si formano stagni d'acqua, favoriscono in modo straordinario la vita dei due generi di larve.*

Quest'affermazione non ha bisogno di dimostrazioni, tanto appare evidente a chi conosce le abitudini delle zanzare. Infatti queste e le anofele specialmente, amando stare riparate dal sole e dai venti, in luoghi freschi, trovano fra le boscaglie e nei pantani alberati le condizioni a loro più favorevoli, e quindi vi si trattengono e depositano le uova nei vicini stagni.

L'ombra intensa della boscaglia stessa poi, rende più debole l'evaporazione e perciò le pozze e gli acquitrini più a lungo perdurano e facilmente sfuggono allo essiccamento, che asciuga invece i luoghi non ombreggiati.

c) *Le cosiddette « fosse o casse di prestito » a fianco delle strade ferrate sono veri semenzai di larve di anofele, anche quando queste mancano nei dintorni.*

Nelle escavazioni fatte in forma regolare per ricavare la terra occorsa ai rilevati ferroviari fu a principio aperto uno scolo, più o meno efficace, ma in seguito, poco o nulla essendovisi esercitata la manutenzione, questi emissari si colmarono e le fosse si convertirono in bassi fondi, ove ora si raccolgono le acque piovane

ed anche quelle d'infiltrazione delle adiacenti campagne più alte, perdurandovi più che altrove. Si formano così stagni erbosi in condizioni tutt'affatto speciali per la prospera vita delle larve predette, le quali ben raramente mancarono nelle esplorazioni fatte in due anni, nella parte della penisola compresa fra la valle dell' Arno, (inclusa) e lo stretto di Messina.

d) *Il massimo grado di salsedine delle acque in cui vivono le anofele, fu riscontrato di 0. 8 per mille.*

Uno degli scopi principali delle ricerche di quest'anno era quello, come già abbiamo annunciato, di riconoscere fino a qual grado di salsedine delle acque le larve delle anofele possano vivere.

A questo intento non solo ricercammo negli stagni, nei laghi, o in altri adunamenti di acque salate, ma analizzammo, mediante la soluzione titolata di nitrato d'argento, tutte le acque che contenevano larve di anofele e di culici. In queste analisi anzi cooperò attivamente il prof. Scala, dell'Istituto d'igiene, analizzando pure buon numero di campioni che gl'inviammo direttamente e specialmente quelli delle acque prossime ai laghi salati che si presupponevano le più ricche di cloruri.

Da queste analisi risultò che una volta soltanto si rinvennero larve in acque contenenti 0. 8 per mille di cloruri e cioè nel fosso *La Fara*, che si riversa nel lago di Lesina. Avvertiamo però che alcuni metri più a monte la salsedine era appena del 0. 3 per mille, e che più vicino al lago le larve non si trovarono. Pur osservando che un'acqua con gm. 0. 8 di cloruri per ogni litro non può dirsi salata, non manifestando al palato tale suo carattere, vi sarebbe ancora da considerare che essendo stata questa proporzione trovata nell'estremo limite a cui le larve discesero, resta il dubbio se esse vi dimorino abitualmente, oppure vi siano pervenute loro malgrado, da qualche metro più in su, ove la salsedine è minore, come farebbe supporre il non averne rinvenute in nessun altro canale con acqua consimile, sboccante nei laghi salati, e neppure in alcuni ove minore era la proporzione dei cloruri.

A parte anche di queste considerazioni, rimane adunque accertato in modo indiscutibile che in tutti i laghi salati, e quindi, per logica deduzione, anche nelle saline e presso le sorgenti di acque salate e nei ristagni o pantani da queste formati, non vivono larve di zanzare, ciò che era di sommo interesse stabilire, perchè lungo il litorale esistono non pochi laghi o stagni di acque molto salate, come entro terra non scarse sono le sorgenti salate in modo molto

sensibile, comprese quelle di Montecatini in Val di Nievole, e si può definitivamente affermare che *soltanto incidentalmente si possono trovare larve di zanzare in acque anche lievemente salate, rifuggendone esse in modo evidente.*

***

Dopo ciò passiamo alla descrizione dei luoghi che più interesse presentano, ed all'esame dei metodi di bonificamento in relazione con le nuove scoperte (1) sul modo con cui si propagano le febbri malariche, dividendo per maggior chiarezza le regioni esplorate in tre parti, secondo i tre litorali sopradetti.

Litorale Adriatico. — Nel litorale Adriatico, da Pescara all'Ofanto, vi sono in funzione, nei vari laghi o stagni di acqua salata attorno ai quali domina la malaria, tre metodi di bonificazione e propriamente: uno per colmata, ossia per alluvione (lago di Salpi); un secondo per essiccazione meccanica (lago Salso o padule di Celentano) e contemporaneamente per colmata rivolta per ora al prosciugamento del padule; ed il terzo, quello del lago di Lesina, non saprei se chiamarlo per inondazione od altrimenti.

I tre sistemi fino a qualche anno fa, cioè prima della scoperta recentissima dell'azione delle anofele sulla malaria, rappresentavano quanto di più opportunamente potevasi fare, e quello di Salpi in modo speciale, attorno al quale fin dal principio del secolo scorso poderosi ingegni avevano studiato, poteva ritenersi un modello di bonificazione per alluvione.

Ma le nuove teorie sulla malaria cambiarono aspetto alle cose, ossia dimostrarono che molte opere ritenute prima ottime per diminuire le fonti malariche, le aumentavano frequentemente e qualche volta anche le creavano.

Ciò costringe ad esaminare se i tre sistemi di bonificamento idraulico sopra enunciati corrispondano ancora, nei laghi salati ai quali furono applicati, allo scopo che li fece prescegliere. Saremo brevissimi in questo esame, e toccheremo soltanto i punti che hanno rapporto con lo sviluppo delle anofele, trascurando tutto ciò che non vi ha immediata relazione.

---

(1) Richiamiamo qui la già citata Memoria « Malaria e Bonifiche – Tre lezioni del prof. A. Celli, 1901 », ove questo argomento è stato svolto in forma sintetica, la quale perciò trova, nei casi parziali che riporteremo, la piena conferma.

Prima però dobbiamo premettere che non essendo le acque salate favorevoli allo svolgimento della vita delle larve di anofele, *tutti i laghi salati sono, relativamente alla malaria, innocui e quindi la migliore bonificazione di essi sarebbe stata quella di mantenerli a livello costante*, impedendo che saltuariamente, ossia nell'estate, quando l'evaporazione è forte, vi rimanessero scoperte zone piane attorno alle rive, per impedire, al sopravvenire di qualche abbondante acquazzone estivo, la formazione di ristagni e pantani di acqua dolce, tanto prediletti dalle anofele, e nello stesso tempo dare libero corso agli influenti che si versano nei laghi stessi, o condurli a sboccare altrove.

Lago salato di Lesina. — È questo un lago di acqua salata, nel quale sfociano corsi di acqua dolce e che perciò, secondo le antiche teorie, dovrebbe essere un campo favorevole allo sviluppo delle febbri malariche.

Esso è uno specchio di forma molto allungata, irregolarissimo nei suoi contorni, con la lunghezza massima di chilometri 22 e largo fra i km. 3.8 ed i km. 1.3, ma nella massima parte di km. 2, con uno svasamento verso Ovest. Resta staccato dal mare per mezzo di una duna larga da un massimo di km. 1.4 ad un minimo di km. 0.250, attraversata da un canale lungo circa 400 metri, detto Foce Schiapparo, che mette il lago in comunicazione col mare, senza consentirgli però un sufficiente ricambio dell'acqua, perchè i flussi ed i riflussi dovuti alle maree ed alle pioggie dirotte, fanno gonfiare il lago per rincollo e non per corrente, la quale appena poco oltre l'imbocco del canale medesimo non è più percepibile e diviene tanto lenta da non riuscire a compensare con nuove immissioni dal mare le perdite per evaporazione.

Un altro tortuoso canale, detto Foce S. Andrea, esisteva un tempo, ma gli interrimenti lungo la spiaggia dell'Adriatico lo hanno ostruito.

La profondità di questo lago è piccola, da m. 0.60 ai m. 0.80 su quasi tutta la superficie. Appena in qualche punto presso la duna e all'imbocco del canale raggiunge m. 1.50.

Il fondo, osservato quando lo specchio è tranquillo, appare ghiaioso e pulito, anzi bianco affatto. Invece, non appena smosso dal remo, svela ovunque un nero e fetido pantano, detto localmente *muglia*, nel quale affonda fino al ginocchio chi scende nell'acqua, specialmente presso le rive.

La salinità dell'acqua non è eguale in ogni epoca dell'anno ed è sempre inferiore a quella del mare. La ragione di queste differenze, molto semplice, è la seguente:

Quando piove abbondantemente il lago aumenta d'altezza, non avendo il canale Schiapparo la capacità sufficiente pel deflusso necessario a ristabilire l'equilibrio col mare, ed il ricambio si forma

soltanto presso l'imbocco; quindi per diluzione la salinità relativa diminuisce. Quando sopravvengono i calori estivi e le lunghe siccità, l'evaporazione agisce energicamente e siccome la reintegrazione dal mare non avviene per corrente, ma per espansione, così le parti alquanto distanti dall'imbocco del canale non ne risentono alcun effetto e la salinità vi aumenta per effetto della concentrazione.

Quali possano essere le differenze nella proporzione dei sali nelle varie epoche, non sappiamo, avendovi fatto pochi saggi, che in seguito enunceremo, diretti a derminare soltanto i cloruri. Però, sapendo che lo specchio del lago ha kmq. 52 circa di superficie; che il suo bacino esterno è di kmq. 350 circa, e che un terzo dell'acqua che piove su questo raggiunge le foci, si può calcolare in almeno m. 0,26 il maggior livello conseguibile in una giornata di pioggia dirotta, con una precipitazione di m. 0.080, cosa non straordinaria. Essendo l'altezza media estiva del lago, quando è a livello del mare, di m. 0,80 e contenendo allora la sua acqua il 2.21 per cento di cloruri, si scorge come questi possano diminuire del 25 per cento ossia ridursi solamente al 1.66 per cento.

Nessun corso d'acqua perenne si versa in questo lago, il di cui bacino imbrifero ha il punto estremo distante dallo specchio appena km. 20. I fossi di scolo delle campagne vi riversano le acque piovane e dalle sponde vi stillano quelle scarsissime di trasudazione dei terreni. I primi, sebbene abbiano principio sulle alture del Gargano, si riducono, negli ultimi chilometri di percorso, a tenue pendenza e passano in ultimo all'orizzontalità, impantanando estese insenature, che si asciugano d'estate, quando il lago è basso e s'inondano d'inverno, quando è alto, mescolando allora la loro acqua con quella salata, tanto lentamente però che il miscuglio è quasi insensibile a qualche diecina di metri dalle rive.

Infatti la proporzione dei cloruri fu, nel luglio 1901, di 22 per mille alla foce dei canali; di 0.8 per mille a circa 5 metri dal lago; e di 0.3 ad altri otto metri da questo. Inutile aggiungere che le erbe crescono rigogliosissime nelle insenature paludose e sulle sponde dei detti canali, tanto da rendere invisibile il suolo sugli argini.

Appena si perviene ove il suolo è a pochi centimetri sul livello del lago, cessa l'acqua e il terreno si mostra secco e screpolato.

La massima proporzione dei cloruri contenuti nelle acque nelle quali si rinvennero larve di anofele, fu del 0.8 per mille, tale cioè da non essere avvertita al palato. Ciò avveniva nel luglio, nel fosso La Fara.

Nell'ottobre successivo più abbondantemente si trovarono le larve, ma più discoste dal lago, e più sparse nella campagna, ove le frequenti piogge della seconda metà dell'estate e del principio dell'autanno, formarono e tennero vivi pantani ed acquitrini di acqua non salata.

Come or ora abbiamo detto, scarsi sono in questo lago i tributi che gli vengono dai fossi di scolo del suo bacino esterno, trascurabili affatto nei tempi di siccità, quando perdurano per lunghi mesi forti calori, che provocano energica evaporazione. Allora, abbassandosi il livello per l'insufficienza del canale di comunicazione col mare a lasciare da questo entrare quel volume d'acqua necessario a mantenere l'equilibrio, le terre basse restano scoperte e sopra estese zone emerge quel putrido pantano, detto *muglia*, che forma il fondo di tutto il lago e che esposto all'azione dell'aria, è causa di pestilenziali esalazioni.

Quando si riteneva che le emanazioni putride provocassero le febbri palustri, l'impedire l'emersione di quel putridume sembrava ottimo provvedimento. Ora che si sa essere le zanzare le inoculatrici delle febbri stesse, impedire la detta emersione è pure benefica cosa, sia perche si toglie la ragione ad altre malattie non meno gravi e sia perchè dovendo a tale intento contenere alte le acque salate, si fa invadere da queste quelle terre che altrimenti, emergendo nell'estate, si convertirebbero, con le sopravvegnenti pioggie, in pantani ed acquitrini di acqua dolce, tanto favorevoli allo sviluppo delle larve delle anofele.

Il sistema di bonificazione adottato fin da principio pel lago di Lesina tendeva ad impedire il detto prosciugamento. Esso perciò, che tanto utile sarebbe stato, se la malaria si fosse sviluppata a seconda dell'antico concetto, altrettanto saggio provvedimeuto riuscirà al presente, sebbene le nuove scoperte abbiano dimostrate erronee le precedenti teorie. Tale sistema consiste nell'ampliare ed approfondire il canale esistente, ossia la foce di Schiapparo, e nell'aprirne un altro in luogo opportuno, largo m. 40, credo, per rendere più rapido ed energico l'efflusso del mare al lago nell'estate, e il deflusso dal lago quando, per dirotte piogge, questo troppo eleva il proprio livello, invadendo le circostanti pianure.

Se questi lavori saranno sufficienti a produrre l'effetto sperato, non è tempo ancora di giudicare; in ogni modo, giusto essendo il principio a cui essi s'informano, altro non potrà occorrere in avvenire che ampliare o aumentare le foci, senza nulla perdere del già fatto.

Complemento indispensabile sarà poi quello di rivolgere tutti i fossi che solcano il bacino esterno, a colmare e rialzare le gronde del lago, per togliere i pantani d'acqua dolce che ora sono estesi. Veramente a questa bisogna lenti molto sarebbero quei rivoli, tutti di piccolo bacino e converrebbe ricercare sussidio dal non lontano Fortore, abbondante di torbide. Di ciò però non è prudente trattare sommariamente, perchè la convenienza di simili opere dipende da tanti coefficienti, che soltanto un ponderato studio sui luoghi può fare giustamente valutare.

Lago Salso e padule di Celentano (Manfredonia). — L'estesissimo antico pantano di Celentano, nel quale spagliava il torrente Candelaro e i paduli che si svolgevano attorno al lago Salso, ora più non esistono ordinariamente, e solo qualcuno qua e là se ne forma dopo abbondanti piogge. Le colmate hanno in parte rialzato il suolo e la fitta rete di canali di scolo ne raccoglie le acque, avviandole lentissimamente alla macchina idrovora, che le solleva dalle depresse conche, riversandole in un più elevato canale, dal quale vanno al mare.

Le condizioni igieniche si sono in conseguenza molto migliorate e ormai quelle regioni più non si ritengono pestilenziali come erano nei tempi andati. Però molto ancora rimane a fare per raggiungere quella maggiore salubrità possibile, senza lusinga di ottenerla perfetta, perchè le naturali condizioni dei luoghi vi si opporranno per alcuni secoli ancora.

La zona pantanosa o paludosa, aveva un tempo, quando però già era staccata da quella di Salpi, circa kmq. 60 di superficie, nella quale era compreso il lago Salso, con kmq. 4 di area, che tuttora esiste, posto a destra della strada che da Manfredonia conduce a Cerignola, distante da essa 300 metri, e km. 0.800, in linea retta, dal mare, con cui comunica per mezzo di un canale largo meno di 20 metri e lungo nello sviluppo del suo tortuoso corso, km. 2 circa, mentre, mediante un altro canale munito di saracinesche ed in comunicazione con quelli di acqua dolce potrebbe, se il livello troppo si elevasse, inviare i suoi eccessi alle macchine idrovore, che sono a fianco della strada predetta, sul lato opposto.

Però mai le acque del lago entrarono in questo secondo canale, anzi quelle di esso, cioè le dolci, più facilmente vanno al lago, impossibile quasi essendo il contrario, che avverrebbe solamente qualora, non più scolando i terreni, mancasse l'alimento naturale ai detti canali di acqua dolce.

In questi il livello è ordinariamente più alto che nel lago, anche quando le idrovore sono in azione, perchè vi scolano le acque chiarificate nelle colmate. Questa prevalenza e la densità dell'acqua dolce minore di quella dell'acqua salata, impediscono i miscugli persino nei tronchi di canale più prossimi e più in diretta comunicazione col lago stesso, e ciò riscontrammo

in due escursioni fattevi, non avvertendo al palato il sapore salino dell'acqua neppure a qualche metro appena dalla riva del lago.

Poco altro possiamo dire sui caratteri del lago Salso, non avendolo potuto esplorare che presso le rive, mancando una barchetta per spingerci al largo. Veramente un piccolo e sconnesso burchiello, mezzo affondato, era incatenato ad una specie di palafitta, che serve di ponticello pel passaggio del canale di acqua dolce, ma non essendovi nè il proprietario, nè alcuno nei dintorni, non potemmo slegarlo per avvalercene.

Le rive, bassissime, sono coperte per buon tratto da fittissima vegetazione, speciale ai laghi in genere. Per esplorarle un operaio dovette scalzarsi, ricercando fin ad una certa distanza ove lo specchio era pulito, per estrarre un campione dell'acqua, nella quale l'analisi volumetrica riconobbe il 3.2 °/₀ di cloruri.

Lo stesso si fece nel canale di comunicazione col mare, egualmente molto erboso sugli argini o meglio ai lati, perchè argini veramente non ha, essendo quasi a livello della campagna, e la salsedine fu solamente del 2.8 °/₀.

Intorno alla bonificazione del padule di Celentano ben poco vi è da dire, perchè essa procede sospinta dal progredire dell'opera della natura. Vi sono infatti fiumi con piene potenti, ricche di torbide, ai quali al sortire dalle valli, chiuse fra i monti o le colline, mancano gli alvei per continuare a scorrere nella estesa pianura e che non potendola solcare, sono costretti a spagliarvi; vi sono, alla fine quasi di questa pianura, verso il mare, gli avanzi di una laguna formanti il lago Salso, destinati infallibilmente a sparire pur essi, per inevitabile interrimento; vi è in ultimo la stessa estesa pianura, la quale, pel suo basso livello, non consente ancora l'affondamento di fossi a quota sufficiente per dare pronto scolo alle acque.

In queste condizioni non si potevano sistemare i fiumi altrimenti che dando recapito almeno alle loro piene, portandole a colmare in modo regolare ed a chiarificare le acque; non si poteva poi dar corso a queste e scaricare le casse di colmata, che creando fossi di scolo con sufficiente pendenza; e non potevasi ottenere questa pendenza altrimenti che dando al fondo dei fossi stessi, negli ultimi tronchi, una quota più bassa di quella del mare, fino al momento in cui le colmate avessero rialzata la pianura tanto da trovare in essa il pendio naturale.

Ma affinchè le acque scorressero entro fossi più bassi del mare, questi non dovevano col mare stesso essere in comunicazione e vi si doveva procurare artificialmente il deflusso, il quale non potevasi ottenere che coll'eduzione meccanica, ossia col prosciugamento mediante le idrovore, ciò che fu fatto ed ora procede egregiamente, mantenendo asciutta per gran parte dell'anno quella plaga, che

altrimenti sarebbe sempre inondata, come lo era nei tempi passati.

Per forza di cose adunque in questa regione bisogna lasciare funzionare le colmate, regolarizzandole come ora si fa, le quali un giorno dovranno invadere anche il lago Salso, per togliere la causa di richiamo di acque sortumose delle circostanti terre che, a bonificazione compiuta, poco su esso saranno sopraelevate e bisognerà, fino a quando la colmazione non sarà molto inoltrata, continuare il prosciugamento con le idrovore.

Siccome lungo tempo correrà prima che l'aspetto alla regione sia cambiato, per qualche anno le condizioni presenti continueranno a sussistere, cioè continuerà a permanere una estesa regione favorevole allo sviluppo delle anofele, le quali troveranno condizioni contrarie alla loro vita solamente nel lago salato, nel canale che lo mette in comunicazione col mare, e nei canali che conducono le acque delle colmate alle macchine, perchè l'azione di queste le rinnova continuamente, mantenendovi anche una corrente molto lenta ed intermittente, ma sufficiente ancora a trasportare le larve o ad allontanarle.

Rappresentando inoltre il metodo di bonificazione adottato, quanto di meglio potevasi fare e dovendo essere, per forza di cose, sempre gli stessi i risultati che con esso si otterranno, qualunque fosse stata la conoscenza delle cause della malaria, quando se ne studiava il progetto, cioè, tanto se fosse stato diretto a diminuire lo sviluppo delle anofele, quanto a togliere le cause di putride esalazioni, nulla rimane da osservare e solo sarebbe da raccomandare che più puliti dalle erbe si tenessero i canali e queste si togliessero quanto più fosse possibile dagli stagni e dagli acquitrini.

Il risultato però sarebbe egualmente effimero, perchè in tanta estensione malarica il piccolo vantaggio diverrebbe imponderabile. Più efficace invece appare il rigoroso adempimento delle prescrizioni per la difesa contro le punture delle zanzare, coi mezzi meccanici, cioè con le reticelle, maschere, ecc., che sono, finora almeno, i soli veramente di effetto sicuro.

Lago di Salpi. — È questo il lago celebre, della bonificazione del quale da un secolo circa si occupano valenti ingegneri italiani ed alla quale si sarebbe prossimi a pervenire, se la causa della malaria che infesta i suoi dintorni fosse quella che fino a tre anni addietro da tutti si riteneva. Esso è adunque interessantissimo e si dovrebbe perciò esaminare alquanto più particolareggiatamente

degli altri, ciò che non ci è consentito dall'indole del presente lavoro, che costringe a quei pochi cenni generali, che siano in stretta relazione con le ricerche sulle anofele.

Il lago di Salpi si trova nelle medesime condizioni fisiche di quello di Lesina, cioè forma una vasta laguna staccata dal mare da un cordone litoraneo largo fra m. 100 e m. 600, che potrebbe ritenersi una estesa duna, un tempo molto più lunga, perchè dovette separare quell'immenso lago che giungeva ai piedi del Gargano, colmato in gran parte dalle torbide dei fiumi Candelaro, Cervaro e Carapella, e del quale il Salso ed il Salpi sono gli ultimi relitti.

In questa diga sono ora aperti tre canali, detti: Foce Carmisina, Foce Pietra e Foce Luisa, che mettono il lago in comunicazione col mare, e permettono un lentissimo ricambio delle acque, tanto lento però, che i maggiori livelli del Salpi, in seguito alle pioggie copiose, cessano per effetto dell'evaporazione, più che per deflusso dai canali.

La forma di questo lago, molto più allungata una volta, è al presente quella di un lungo trapezio con uno dei lati maggiori contorto o ripiegato irregolarmente. La sua larghezza massima è di km. 4 e quella minima, astraendo da qualche punta, o speciale irregolarità, è di km. 2.7; la sua maggiore lunghezza è di km. 11.5 e quella minore di km. 9. Queste dimensioni si riferiscono al suo stato invernale, mentre in estate, quando alcune zone si asciugano, cambiano alquanto. La superficie è in media di kmq. 37 e varia fra l'estate e l'inverno a seconda dello stato delle parti in colmata, che, quando i fiumi non apportano acque torbide, rimangono asciutte.

La mancanza di approdi pel fondo bassissimo, fangoso e di barche, non permise di esplorarne la profondità in molti punti, però tutto intorno alle rive orientale e meridionale, si riconobbe che l'acqua, fino ad alquante centinaia di metri dalla riva, non raggiunge m. 0.25 di altezza, tanto che estese zone durante i forti calori rimangono scoperte.

La massima profondità si sa che non supera un metro, e quella media (media pure fra i diversi livelli che il lago acquista durante l'anno) si ritiene prossima a m. 0.50.

Il livello eccessivamente basso di molte parti vicine alle rive è dovuto alle opere di bonificazione con le quali si spinge la colmata da levante e da ponente, verso il centro, dal che avviene quel parziale prosciugamento estivo, che nel luglio ultimo presentava una vasta superficie argillosa, tutta a crepacci, o pantanosa e melmosa in qualche punto, che rendeva impossibile avvicinarsi all'acqua pulita, senza entrare nel fango fino alle ginocchia, ciò che fece un operaio del luogo per attingere i campioni.

La colmata si esegue presentemente per opera di due fiumi, l'Ofanto ed il Carapella. Il primo, derivato con un canale capace di una massima portata di mc. 180, è condotto sul lato sud-est del lago; il secondo, con un massimo di mc. 60, scarica le sue torbide

sul lato nord-ovest. L'uno e l'altro di questi fiumi hanno magre fortissime. Allora i canali scavati in terra argillo-sabbiosa, restano col fondo melmoso fino a quando si asciugano, formando nel frattempo delle pozze di fanghiglia densa, specialmente verso Trinitapoli, nella quale i ragazzi vanno a guazzare, non certo con vantaggio della pulizia e dell'igiene.

Nei canali distributori delle torbide poi e in quelli di scolo delle terre emerse circostanti, si formano pure depositi melmosi, che in estate sono tolti da squadre di operai.

L'acqua del lago è molto salata; estratto un campione a pochi metri dalla riva, segnò 3. 5 per cento di sali in genere, nel mese di luglio, quando l'evaporazione aveva asciugato largo spazio di colmata. Nell'ottobre successivo, quando per le abbondanti piogge ritornarono a sommergersi vaste zone, l'acqua su queste conteneva 1. 2 per cento di cloruri, mentre alquanto più in là, ove non vi era bagna-sciuga, ne aveva 2. 3 per cento. Si comprende da ciò come le terre che d'estate restano scoperte devono contenere forti dosi di sale, ragione per cui lungo le rive del lago le erbe non allignano facilmente. Nei canali poi non vi è acqua, nè si formano acquitrini, se non appena dopo le piogge.

Se nel lago di Lesina, nel Salso, e nella palude di Celentano abbiamo dovuto constatare che, o per naturale condizione di cose, o per opera dell'uomo, i lavori di bonificamento progettati quando dominavano altri criteri sull'origine della malaria, riuscirono egualmente opportuni dopo che quei criteri furono radicalmente cambiati, non lo stesso ci è occorso nel lago di Salpi.

Qui, come di già abbiamo detto, il bonificamento si sta operando mediante le colmate con le acque dell'Ofanto e del Carapella, immesse dai due estremi opposti, con azione convergente verso il centro.

Le dimensioni del lago e la superficie di altre terre depresse, già dicono che due fattori devono trovarsi in contrasto, e cioè il tempo e l'altezza della colmata. Tanto più questa vorrà essere alta, tanto più lungo sarà quello, e quindi eguale contrasto sorgerà sui benefici dell'opera, che tanto più riusciranno buoni, quanto più saranno tardivi.

Il progetto in corso di esecuzione si ripromette di sostituire al lago, entro 30 anni, una pianura con la pendenza del 0. 10 per chilometro. Il tempo ancora necessario a conseguire tale risultato è un po' lungo, ma non poteva essere minore, mancando altre acque che possano concorrere all'opera.

L'altezza della colmata invece è forse troppo bassa, perchè la pendenza dell'1 per diecimila, se è sufficiente per lasciar scorrere grandi masse d'acqua entro ampi alvei, è affatto insignificante per i canaletti di scolo delle campagne e per queste stesse, e quindi non si otterranno risultati igienici, se non molti anni dopo ottenuto il primo scopo prestabilito, se si continuerà l'opera delle colmate, rivolte in seguito a rialzare ancora parzialmente le terre per renderle più pendenti verso i collettori.

Se così non si facesse, si sarebbe soltanto ottenuto come risultato ultimo della bonificazione, di creare un vasto campo impantanabile, anzi soggetto, dietro l'assettamento delle terre, a convertirsi in una serie di acquitrini, nei quali inevitabile sarebbe la moltiplicazione delle zanzare anofele, che infesterebbero un luogo ove prima si stendeva un inoffensivo lago salato.

Ripetiamo che non è errore dell'uomo quanto colà si sta svolgendo, ma della scienza che fino a tre anni or sono era avviata sopra una falsa strada, tanto che da oltre un secolo, sia non divergendo le acque del Carapella ad altro sbocco, sia non impedendo gli straripamenti dell'Ofanto, sia non mantenendo fra il lago ed il mare quelle ampie vie di comunicazione che ne facilitassero il rapido ripristinamento del livello ed il facile ricambio delle acque, non solo si lasciò che il fondo si elevasse tanto da rendere quasi pantanose estese zone presso le rive, che rimangono scoperte non appena l'evaporazione è alquanto forte, ma si rese impossibile, senza grande danno all'igiene pubblica, la permanenza del lago nelle condizioni attuali, ossia si rese imprescindibile la colmazione di molte parti di esso.

Può dirsi quasi, in poche parole, che i lavori delle ultime due generazioni che ci precedettero, non fecero che peggiorare le condizioni dei luoghi e creare uno stato di cose tale, da imporre alla generazione presente la continuazione in massima, dei loro progetti.

Allo stato attuale perciò, sebbene le nuove scoperte sulla malaria indichino altre vie da seguire per ottenere più prontamente e più completamente, benefizi non altrimenti conseguibili, pur tuttavia è giuocoforza proseguire, pel lago di Salpi, nel metodo finora tenuto, apportandovi però quelle modificazioni che facendone riuscire proficua la parte già compiuta od iniziata, impediscano la creazione di nuovi campi malarici.

Non è nel compito affidatoci di entrare nei particolari delle opere, ma soltanto di rilevare i principii informativi di esse, e di

accennare se siano, o come possano essere messe in armonia con le nuove teorie sulla propagazione della malaria. Perciò non ci sembra conveniente indicare speciali nuovi lavori, ma soltanto di esporre il più brevemente possibile qualche principio generale, augurandoci però di essere stati prevenuti da chi più direttamente è interessato nell'argomento e che con più competenza potrebbe svolgere ampiamente il tema.

Nessun dubbio essendovi ormai che nelle acque salate le larve delle anofele non vivono, è chiaro che la superficie del bacino di Salpi occupata da tali acque non può essere causa di malaria, e quindi nessuna speciale ragione di sopprimerla vi è, se se ne toglie quella di evitare che qualche striscia possa nell'estate rimanere fuori acqua ed impantanare.

D'altra parte essendo indiscutibile che ove si formano pantani, acquitrini o qualunque altro ristagno di acqua dolce, le larve predette, non appena la vegetazione vi si svolge, prendono dominio, ed essendo inevitabile tale formazione nelle pianure deficienti di scolo, è egualmente chiaro che sostituendo al lago una campagna che si trovi poi in queste condizioni, il che avverrà se avesse una pendenza di appena l'uno per diecimila, si creerà una regione malarica dove prima vi era la salubrità perfetta.

Quindi tutto consiglia a limitare la colmata del lago alla minor estensione possibile, e a dare alle terre emerse ed a quelle circostanti, pendenza sufficiente allo scolo delle acque meteoriche.

Ciò stabilito e rilevando che presentemente la causa della malaria risiedono nelle campagne attorno al lago, anzi in tutte quelle, può dirsi, che dal Gargano giungono all'Ofanto ed anche più in là, sembra che converrebbe determinare entro il lago la zona a fondo basso, soggetta a restare asciutta, e di essa formare il limite della colmata. Questa poi, diretta alle terre più depresse circostanti ed a quelle di nuova creazione, dovrebbe innalzarle in modo da poter facilmente scolare non già nel vicino lago, onde non apportargli nuovamente materiale d'interramento, ma nei prossimi fiumi.

È evidente che se tutte le torbide con le quali si voleva, entro trenta anni ancora, innalzare mediamente di un metro e mezzo la superficie del lago e di una corrispondente altezza anche le limitrofe terre, a queste soltanto si rivolgessero ed a quel piccolo cordone che formerebbero le nuove gronde, si otterrebbe nel medesimo periodo di anni una sopraelevazione tale da comportare l'affondamento dei fossi di scolo con la pendenza necessaria ad un pronto prosciugamento.

Riteniamo che questi pochi cenni siano sufficienti a dare una idea su quanto relativamente alla bonifica di Salpi sembra più in armonia con le nuove scoperte sulla malaria e non proseguiamo nell'analisi delle opere per rimanere entro i limiti dell'incarico avuto.

Stagni e laghetti di Lecce. — Con un rettifilo di km. 11, sul quale corre ora la tramvia elettrica, da Lecce si giunge alla marina di San Cataldo, o Punta del Sapone, costituita da qualche recente costruzione, dagli stabilimenti balneari, da un faro e forse, quanto prima, da un piccolo approdo, al quale credo si lavorasse nel luglio scorso. A destra ed a sinistra della marina si stende una pianura sabbiosa, arida per mancanza di corsi d'acqua, priva di strade e di faticoso accesso, per la mobilità del suolo.

Ad alcuni chilometri dai due lati della marina, si trovano in questa pianura e prossimi alla spiaggia, vari stagni o laghetti di acqua salata, a livello del mare che da questo vi perviene per filtrazione.

Qualche altro avvenne alquanto più elevato, di acqua dolce, limpidissima.

Più propriamente, partendo con barca da San Cataldo ed andando verso est, a tre chilometri circa di distanza, appena passata l'estremità della prima insenatura, si trova una vallecola, asciutta poco lungi dalla spiaggia, ma fino a qualche centinaio di metri invasa a tratti dall'acqua marina, immessavi nei tempi burrascosi o durante le maree e stagnante dopo. Agli orli di queste pozze, uno strato di pesciolini morti, in putrefazione, ammorba l'aria ed attira gli insetti dei dintorni, non però le zanzare, delle larve delle quali non vi è traccia.

Proseguendo ancora per un mezzo chilometro, in barca, si scende ad una spiaggia sabbiosa, che subito s'innalza alcuni metri, formando tombolo. Dietro questo e distante dal lido cento metri circa, si trova uno degli ora detti laghetti d'acqua dolce, di forma elittica, con l'asse maggiore di 80 metri. Attorno agli orli per qualche diecina di metri una folta vegetazione palustre nasconde pantani ed acquitrini, rendendo fastidioso l'accesso e non privo di sorprese.

A qualche centinaio di metri all'est, e più vicino alla spiaggia, si trova un altro laghetto, alquanto più vasto, egualmente circondato da erbe palustri e acquitrini. Esso però è di acqua molto salata, non meno di quella del mare.

Più lungi ancora s'incontrano altri laghetti, che sembrano fra loro in comunicazione e ne formano uno molto lungo e irregolare detto

Stagno grande salato. Tutti quanti sono di acqua salata. Non è possibile denominarli perchè nei dintorni non eranvi abitanti e quel pastore che serviva da operaio, nulla ne sapeva, non essendo dei luoghi, come pure forestieri erano il barcaiuolo ed un altro giovinetto, venuti da Brindisi alla marina di S. Cataldo per la stagione dei bagni.

***

Intorno a molti altri stagni, o laghetti salati, od a quelli di acqua dolce, nulla occorre dire, entrando essi nella categoria delle ordinarie bonificazioni. Tutt'al più si può aggiungere che il miglior modo di renderli innocui sia quello di mantenere ai primi libera comunicazione col mare, non per impedire la vita delle anofele, che mai potranno allignarvi, ma per evitare gli impantanamenti, malefici sotto altri riguardi; ed ai secondi, quando non si possa prosciugarli, di liberarli dalle erbe, conservando loro lo specchio libero.

Litorale Ionio. — Per non dilungarci in inutili ripetizioni diciamo subito che in questo litorale non vi sono laghi o stagni salati, non potendosi con questo nome intendere le pozze d'acqua marina che si formano sulla spiaggia viva, cioè in quella tutt'ora battuta dalle onde nelle forti tempeste, ove non cresce erba nè vi è terra vegetale. Avvertiamo inoltre che gli stagni d'acqua dolce, prossimi al lido, entro la campagna però, altrimenti cadrebbero nel caso precedente, sono scarsissimi, perchè la maggior parte di essi hanno carattere transitorio, formandosi nella stagione piovosa e scomparendo durante le siccità estive.

Comunque sia del resto, in tutti quelli di acqua limpida e senza erbe non si rinvennero mai larve.

In questo litorale innumerevoli sono i corsi d'acqua, grandi, piccoli, e minimi, che hanno il carattere di fiumara, cioè che sono a larghissimo letto sassoso, alle volte pensile sulla campagna, privo d'acqua per lo più, in estate, o con un solo filo vagante, che si perde quasi nella grande distanza fra le sponde.

Questo loro speciale carattere lo conseguono in dipendenza della topografia della regione. Ivi le parti in montagna o in collina degradano tutto d'un tratto e s'immergerebbero nel mare, se la facile erosione nelle loro masse argillo-sabbiose non avesse riempito le insenature e coperte le spiagge, formando ai loro piedi una estesa pianura litoranea, quasi orizzontale, e così poco elevata sul mare stesso, da non lasciare agli alvei la pendenza necessaria al rapido

passaggio delle piene, che scendono dai monti cariche dei materiali fluitati dall'alto, i quali, costretti a depositarsi, elevano il fondo dei corsi d'acqua e costringono questi a nuove invasioni laterali per riacquistare ai fianchi quella parte di sezione che perdono nel centro.

Tutto il loro corso intanto offre ben difficilmente condizioni favorevoli alla vita delle larve, perchè quando si svolge in montagna, la corrente molto veloce è tale che, seppure vi nascessero, le trasporterebbe in basso; in pianura poi l'acqua non si ferma, non dilaga, nè ristagna negli alvei, potendo penetrare entro l'alluvione e scorrere subalvea, fra i ciottoli, o raccogliersi tutta nel filone; per cui neppure allora le larve trovano propizio luogo ove allignare nella grande distesa sassosa, asciutta, senza terriccio e senza erbe, e sconvolta ad ogni più piccola piena.

A fianco degli alvei però, o per naturale depressione della campagna in pianura, o per artificiali ripari o golene, o per frane ed altro, si formano molte volte spazi terrosi piani, con discreta vegetazione, nei quali le acque del fiume o torrente possono per espansione o per filtrazione pervenire e trattenervisi in quiete. Allora le zanzare, e specialmente quelle del genere anofele, li convertono dopo pochi giorni in depositi di larve.

Si noti poi che seppure un alveo non sia favorevole a tale sviluppo, ciò non toglie che, o per alluvioni o per temporanea difficoltà di scolo, si producano nelle campagne circostanti, transitoriamente, le condizioni opportune, ed ivi avvenga quell'infezione che il fiume non ha capacità di produrre, la quale non sarà mai grave, nè di lunga durata, perchè essendo facili riconoscere le fonti malariche, non potendo vivere le larve che entro le acque ferme, facile pure sarà togliere gli accidentali acquitrini.

In tutta la pianura del litorale è stato osservato che i pantani permanenti, i ristagni, gli acquitrini, ecc., si trovano soltanto dove vi è il bosco a cespugli, a brughiera, ecc., mentre mancano ovunque la campagna è coltivata o nuda.

Da quanto abbiamo esposto relativamente agli alvei e alle campagne in piano si hanno di già gli elementi per riconoscere con semplici escursioni, senza particolari indagini, quali siano le località nelle quali le larve delle anofele debbano trovarsi.

Ciò ci dispensa da più minute descrizioni sui vari fiumi e torrenti del litorale, molti dei quali possono quindi essere indicati comulativamente, cioè a gruppi.

È qui il luogo di ripetere che una fra le prime cause della pro-

pagazione delle anofele sia stata la costruzione delle strade ferrate che, tutto a fianco, lasciò le casse di prestito, quasi ovunque convertite in vivai di larve. Tali si riconobbero nei dintorni di Roma, nel Grossetano, presso Pisa, lungo le linee Siena-Grosseto e Siena-Chiusi, e persino nella siticulosa Puglia, ove quella poca acqua piovana che ristagnava, era appunto in quelle casse.

Attorno a Sibari poi anche presso le fronti dei ponticelli, la mancanza di platee od altre cause, formarono frequentemente nei fossi, piccoli stagni erbosi, egualmente divenuti nidi di larve.

Ma quivi non solamente attorno alla linea stanno, la quale nel caso presente ha concorso soltanto all' invasione, non promuovendola, come in molte altre località. Si trovano sparse invece in tutto il territorio sopra indicato, ricoperto in massima parte da fitta boscaglia. In qualunque punto penetrammo, ove eravi acquitrino, ristagno, palude, pantano, pozzanghera ed anche semplice fossetta d'acqua, se questa era pulita abbondavano solamente le *anofele*, se era alquanto sporca, ed in un sito anche rossiccia, eranvi *anofele* e *culici* se invece era malto sporca, fangosa, con aspetto putrido, mancavano le *anofele* e moltiplicavano i *culici*. Anzi di questi un vero semenzaio si trovò presso il casello del km. 126, in un pantano con fitte erbe galleggianti, quasi putrescenti. Tutto intorno, in pozzette di acqua pulita, con erbe fresche, essi mancavano, ma erano copiosasamente sostituiti dalle anofele.

Presso la spiaggia e lungo questa non vi erano stagni, qualche piccola pozza di acqua dolce, forse accidentale per recenti pioggie, (18 ottobre 1901) era priva affatto di larve, le quali terminavano di mostrarsi non appena cessava la terra coltivabile.

Litorale Tirreno, dallo stretto di Messina, al Volturno. — Le dirotte pioggie che sopravvennero durante le esplorazioni, impressero forti velocità a quasi tutti i fiumi o torrenti del litorale, togliendo così l'opportunità di minute ricerche. In contrapposto però ricostituirono, come già precedenti e frequenti piogge avevano formato, ristagni d'acqua in regioni ove nell'estate di ordinaria siccità, abitualmente non se ne trovano, consumati dall'evaporazione che in tal modo distrugge temporaneamente i focolari di quella intensa malaria che domina in alcune regioni.

Dalle poche esplorazioni che si sono potute fare in condizioni opportune, ne è venuta una conferma nuova di quanto già dicemmo nei paragrafi precedenti e cioè, che se sulle spiagge del mare si formano a pochi metri dalla riva pozze d'acqua salata, cosa del

resto rarissima o ristagni di acqua dolce presso le foci dei torrenti, non vi allignano larve di alcun genere.

Egualmente privi di larve sono tutti gli stagni di acqua dolce che si formano a qualche distanza dalla riva, quando però non vi sia ancora il terreno coltivabile.

Alcuni esempi bellissimi a conferma di questo esposto si presentarono lungo il litorale, dei quali uno solo ne citiamo per non essere troppo prolissi.

Presso la marina di Paola scende al mare un torrentello con pochi litri al minuto secondo di limpida acqua. Giunto ove comincia la spiaggia, forma un laghetto senza emissario, e l'acqua sfugge filtrando fra la ghiaia. Il suo livello è alto quanto quello delle mediocri mareggiate. Ivi non solo non si trovano larve, ma l'acqua stessa vi si mantiene dolce, tanto che un campione estratto segnò appena gr. 0.2 di cloruri per ogni litro.

In generale poi questo litorale è in gran parte in condizioni poco favorevoli allo sviluppo delle zanzare, sia per le forti pendici dei monti, che scendono per lunghi tratti al mare, nude di vegetazione, senza formare ripiani, ove le acque possano soffermarsi; sia per il carattere veramente torrentizio dei corsi d'acqua, nella massima parte brevi di percorso e asciutti, con gli alvei incassati fortemente fra erti e dirupatissimi monti.

I luoghi di più intensa malaria di tutto il litorale sono nelle valli del F. Mesima, del fiume Amato e nella pianura di Battipaglia che si estende oltre Pesto.

In ognuno di questi siti furono fatte ricerche. Nella seconda valle però le dirottissime piogge, che fecero gonfiare tutti i corsi d'acqua, impedirono di riconoscere il vero stato delle cose, per cui ora non ne parleremo riservandoci di osservare meglio l'anno venturo; solo rileveremo come tutte le condizioni vi siano propizie per la propagazione delle anofele.

Diario delle ricerche sulla presenza delle larve di zanzare, in varie acque d'Italia, nell'anno 1901.

Nel presente diario sarà indicato a fianco di ogni località esplorata il grado di salsedine in grammi, riferito ad un litro d'acqua, quando la proporzione del cloruro supera uno per 10,000.

I. — BACINO DELL'ARNO E LITORALE TIRRENO TOSCANO.

ARNO DEL CASENTINO. *Sorgenti dell'Arno. Torrenti Arnino, Arnaccio e Staggia* (giugno e agosto). — Acque limpide, ferme o correnti, pulite o con erbe, con alveo ciottoloso, nessuna larva.

Fosso di Camaldoli, fosso di Serravalle (giugno e agosto). — Nessuna *larva.*

Fosso Archiano (agosto). — Presso Bibbiena si formano, irrigando la pianura alluvionale, dei ristagni d'acqua; qualche acquitrino, inoltre, si trova a fianco della strada ferrata, nelle fosse di prestito; ovunque, nell'agosto, abbondando le erbe, si rinvennero le larve di *anofele;* quelle invece di culici furono trovate solamente in un pantano, con erbe quasi macerate, poco discoste dalla stazione.

Fiume Arno, da Stia a ponte a Buriano (giugno e agosto). — Acqua corrente, fondo sassoso senza erbe, qualche ristagno nel greto argilloso. Nessuna *larva.*

Torrente Chiassa, identiche condizioni. Nessuna *larva.*

Pianura alluvionale fra la Chiassa e l'Arno, presso Giovi. — Piccoli stagni di acqua piovana, con scarse erbe. Alcune larve di *anofele.*

Pozzanghere, pantani, ecc., senza erbe. Numerosi *culici* e nessuna *anofele.*

VAL DI CHIANA (giugno, agosto e novembre). — La siccità del 1901, che asciugò completamente quasi tutti i corsi d'acqua della Chiana, impedì nell'agosto un'esplorazione completa ed esauriente di tutta la regione, perchè tolse il modo di giudicare dove le larve in stagione meno asciutta allignino. Ove invece fu possibile esplorare in condizioni opportune, si riscontrarono frequentemente nelle acque sporche o pantanose i *culici*, mentre le *anofele*, abbastanza rare ordinariamente, si rinvennero soltanto nei ristagni della Parce, presso la stazione di Chianciano, nell'acquitrino del Ranocchiaio, posto a destra del Canale di Passo alle Querce, che unisce i laghi di Chiusi e di Montepulciano (nulla nei laghi, nemmeno fra le alte e fitte erbe), presso Sinalunga, e poi molto più scarsamente presso Chiusi. Furono invece mancanti affatto nel Ca-

nale Maestro, nell'Esse di Cortona, e nell'Esse di Foiano, quando avevano acqua, e così pure nel torrente Castro, presso Arezzo.

Il 26 novembre, ripetute le esplorazioni nella pianura interposta fra i laghi predetti, furono trovate larve di anofele in un canale fittissimo di erbe, con acqua limpida a 9° di temperatura.

ARNO, DA PONTE BURIANO AL MARE (agosto 1901).

Arteria principale. — In nessuna parte dell'alveo dell'Arno furono trovate larve, nemmeno ove l'acqua era ferma.

Sieve. — L'alveo sassoso di questo fiume, e forse anche le frequenti piogge, resero negative le ricerche tanto nel tronco da Dicomano a Pontassieve, quanto nei torrenti laterali di sinistra tagliati dalla via rotabile.

Bisenzio ed Ombrone Pistoiese (agosto 1901). — Il primo di questi torrenti, abbastanza ricco d'acqua, non offre fino a Prato, condizioni favorevoli alla vita delle larve. Ciò non ostante qualcuna di culici fu trovata in qualche ristagno pantanoso. A valle di Prato essendo l'acqua rivolta tutta all'irrigazione, forma qualche ristagno nei canaletti e nei solchi, ma ivi ben rare furono le larve e sempre di *culici.*

L'*Ombrone*, asciutto, non offrì in qualche pozza rimasta nelle golene, alcuna larva.

Torrente Grana. — Nel tronco che gira attorno alle mura di Pistoia ristagnano acque molto sporche, quasi putride; ivi innumerevoli furono i *culici*, e non scarse le *anofele;* queste però ove più chiara era l'acqua e con erbe; quelli ovunque.

Bacino di Fucecchio. — Nessuno dei torrenti che scendevano nella pianura dell'antico padule di Fucecchio, offrì larve nella parte in collina, sia perchè gli alvei sassosi formano scarsi e puliti ristagni, sia perchè la corrente è ovunque forte, e sia pure perchè i canali industriali ed irrigui, come pure i terreni irrigati, sono tenuti con molta cura.

Pervenute le acque nella pianura e formatisi alcuni acquitrini, numerose ovunque si rinvennero le larve di *culici*, eccetto in quelli dovuti al Salsero, perchè alimentato dalle sorgenti salate delle Terme di Montecatini. Le larve delle *anofele* invece si riscontrarono ordinariamente scarse; molto abbondanti solamente presso il *lago Sibolla*, non in questo però, nè nelle acque a specchio libero, ma negli acquitrini adiacenti, nelle forme con ristagni erbosi, ed anche in qualche pantano.

Pure presso Altopascio si trovarono larve delle due specie ove l'acqua poteva impaludare nei fossi colatori, fra le alte erbe.

Dopo Ponte a Caiano, cioè quando il canale Usciana è già formato, non fu più rinvenuta alcuna larva; in questo, perchè l'acqua è in moto; nelle adiacenze forse perchè le piogge le avevano in precedenza asportate.

Bacino di Bientina, Monte Pisano e bassa valle del Serchio (giugno e agosto). — Riuniamo in un sol gruppo queste tre regioni perchè la seconda spiove in parte nella prima, e questa raccoglie parte delle acque del Serchio, immessevi artificialmente per riversarle in altro bacino.

Le acque irrigue, provenienti dal *Condotto pubblico* di Lucca, derivato dal Serchio, presso Ponte a Moriano, formano alle volte, usate come sono senza alcuna parsimonia, veri acquitrini nei rigogliosi prati artificiali. In uno di questi, presso Lunata, a fianco della strada provinciale che conduce a Pescia, abbondantissime furono trovate le larve di anofele e nessuna di culici; in altre consimili località, le ricerche furono negative. Si noti che ciò avveniva nella seconda quindicina di agosto, quando generali erano i lagni per la forte magra, il che non permetteva un troppo pronto ricambio dell'acqua, e frequenti erano gli impantanamenti.

Attorno a Lucca, come alle falde orientali del Monte Pisano, le acque sono quasi ovunque correnti, anche ove sono sollevate dalle ruote a secchi per riversarle nelle campagne ad uso irriguo, per cui le larve sono scarsissime, ed appena qualche *culice* si rinviene qua e là, in qualche occasionale fossetta o in qualche pantano. In una sola località si trovarono larve di *anofele*, e cioè nel canaletto che raccoglie una piccola scaturigine di buon'acqua, sgorgante nella pianura alluvionale a 50 metri circa di distanza dal piede del Monte Pisano, verso Buti, presso il cosiddetto Ruotone.

Serezza Vecchia, Rio Magno, Visona di Compito, Visona di Castelvecchio. — Nessuna larva.

Sorgenti minerali di Asciano, Agnano, Bagni di San Giuliano, Oliveto. — Nessuna larva.

Fosso di Vicinaia, fiume Morto, ed in altri canali presso Bagni di San Giuliano, nei quali si riversano le acque minerali dei dintorni, diluite nell'acqua comune e libere dall'anidride carbonica: abbondanti *anofele*, nei ristagni e fra le erbe.

A valle dei Bagni di San Giuliano, le cui acque debbono dirsi termali e non mineralizzate, contenendo meno dell'uno per mille di sali alcalini, un fosso le raccoglie mescolandole subito con altre comuni e più abbondanti. Questo, dopo sottopassato il canale di Ripafratta, forma qualche pantano nel largo alveo erboso, nel quale in acqua quasi putrida, si trovò un vero nido di *culici.*

Sorgenti termali di Gavorrano. — A fianco della strada che dalla via Emilia conduce a Gavorrano s' incontra una ricca sorgente di acqua insensibilmente mineralizzata, ma termale, a 36°. In essa, come ben si comprende non vivono larve. Però nei canaletti a fianco, ove si mescola acqua termale con acqua comune, formando un miscuglio a 21°, si trovò, il 19 novembre 1901, un vero semenzaio di *larve* di *anofele*, le quali mancavano poi in tutti i canali prossimi ad acqua fredda.

Lago dell'Accesa (novembre). — Le *larve* di *anofele*, in qualche acquitrino furono trovate numerose, tanto quanto nel settembre 1900, e in altri mesi.

II. — LITORALE ADRIATICO CENTRALE.

FIUME TRONTO (maggio, luglio, settembre e ottobre). — In tutto l'alveo di questo fiume ed in quello dei suoi influenti a letto largo e sassoso, non fu trovata alcuna larva e neppure presso la foce e lungo la spiaggia dell'Adriatico, presso San Benedetto del Tronto. Ed egualmente nessuna se ne rinvenne nelle acque mineralizzate o salate, come quelle del fosso Bretta (81 per mille di cloruri, per concentrazione) poco a valle di Ascoli Piceno, che in qualche luogo impantanano, sterilizzando però il terreno.

Maceratoi di canapa. — Un infinito numero di *culici* si presentò sempre, invece, nei soliti maceratoi delle piante tessili, ovunque situati, e nessuna *anofele.*

Sorgenti di acqua comune della valle del *Tronto.* — A fianco della sorgente *Spugnale,* presso Accumoli, sulla falda meridionale del gruppo del Monte Vettore, a m. 1180 sul livello del mare, in acqua limpidissima, ad 8° centigradi di temperatura, ferma fra le erbe, formante acquitrino per infiltrazione: qualche *anofele.*

A qualche metro sopra l'alveo del torrente *Castellano,* presso Castel Trosino, ai piedi del Monte dei Fiori (Ascoli Piceno), in alcuni ristagni di acqua limpidissima, fra le fitte erbe prative, a fianco di qualcuna delle numerose sorgenti di acqua comune, che rendono interessante quel punto, già caratterizzato da quella immane rupe di travertino, in gran parte franata, sulla quale siede il sopradetto paese o castello; numerose *anofele* e nessun *culice* (settembre). Alternanti con queste sorgenti, altre egualmente numerose e potenti se ne trovano, lungo un tratto di 500 metri, di acqua solfurea, che pur formano ristagni fra le erbe. In nessuno di questi però e neppure presso qualche altra polla ferruginosa, sebbene tutte mineralizzate debolmente, si trovarono larve.

Per non ripeterlo in seguito, diciamo ora che in nessuna delle tante sorgenti mineralizzate di questo bacino furono trovate larve, nè in quelle solfuree delle terme di Acqua Santa, le quali veramente tanto per la temperatura, quanto pel volume e la veemenza con la quale sfuggono dalla grótta e pella vicinanza del Tronto, in cui si scaricano, non consentirebbero la vita a qualsiasi insetto, quand'anche la natura dell'acqua non fosse a ciò contraria; nè in quelle pure solfuree di Paggese, che prima scorrono sotterraneamente e poi dopo, giunte al fondo di un pozzo, convertito in terma, spariscono, sperdendosi nei meati del potente banco del travertino che le racchiude e che giunge al fiume, ove probabilmente le riverserà in forma subalvea; nè presso altre e non poche minime polle solfuree e saline, delle quali ultime qualcuna, oltre quelle del torrente Bretta già nominate, facilmente impantanano, diluite dalle acque piovane.

Torrente Marino. — Numerose località furono segnalate dalla presenza delle larve delle *anofele*, nella valle del torrente Marino, che a pochi chilometri dopo Ascoli si versa nel Tronto, e le cui acque, scarse veramente, e provenienti dalla Montagna dei Fiori, sono condotte ad irrigare, formando ristagni fra le lussureggianti erbe prative, non ultima causa della vitalità del nocivo insetto.

FIUME TORDINO. — Alcune larve di *anofele* furono trovate (settembre) ai piedi del colle o prominenza su cui sta la città di Teramo, ove le acque della sorgente del Vezzola, dopo aver servito a produrre l'energia per l'illuminazione elettrica, ed aver mosso qualche altro opificio, passano, nel ritornare all'alveo, ad irrigare pochi ettari di terreni coltivati ad orto.

I culici (settembre) brulicavano in diverse pozzanghere, quasi presso l'alveo, e specialmente sotto il ponte della via che dalla predetta città conduce alla stazione ferroviaria, ove una piccola polla, che sembra di acqua sorgiva, mentre è soltanto di rinascenza, fornisce il mezzo adatto alla loro esistenza.

Nella *Valle del Tordino* non si rinvennero larve, neppure ove eranvi ristagni, o condizioni propizie, consimili a quelle dell'ora esaminato suo influente, torrente Vezzola.

FIUME VOMANO. — L'anno scosso vi facemmo ricerche, specialmente presso la foce, con esito negativo. Quest'anno le ripetemmo, ottenendo il medesimo risultato nelle stesse località, ma in altre, prima non esplorate, rinvenimmo larve di anofele, e propriamente nel *torrente Razza* (settembre) presso Isola del Gran Sasso, ove in alcuni canaletti laterali, con acqua ferma, torbida, poco limacciosa e quasi senza erbe, stavano numerose *larve di anofele*. Molte di queste si trovarono pure (maggio) in acque limpidissime, a 7.75° di temperatura, formanti piccolo acquitrino, lussureggiante di vegetazione, alla quota di m. 1020 circa, sul dirupato fianco del colle che sta di fronte alla conosciutissima e quasi inaccessibile sorgente di Santa Colomba, sotto il Monte Prena, uno dei più alti del gruppo del Gran Sasso d'Italia.

Interessante è lo aver trovato le anofele a quell'altitudine nel mese di maggio, pochi giorni dopo, può dirsi, da quando ivi le minime temperature più non scendevano sotto zero.

Anche alla falda del Monte Corno, che è la più alta cima della catena del Gran Sasso, nel Rio Arno, dopo le sue freddissime sorgenti, qualche *anofele* fu rinvenuta, e così con quelle precedenti, con quelle riscontrate l'anno scorso presso la sorgente Mortaro, nella valle del fiume Tavo, sopra Farindola, e con le altre nelle convalli dell'Aterno, presso Aquila, rimane confermato che le larve delle anofele vivono tutt'attorno al più alto monte dell'Appennino, fino alla quota di m. 1500 circa, e probabilmente molto più in alto ancora, non potendo dimostrare il contrario, perchè nelle escursioni fattevi non furono incontrate acque ferme a quota più elevata.

BACINO DEL FIUME SANGRO (giugno e settembre). — Di tutti i fiumi dell'Italia centrale che sfociano nell'Adriatico, questo è forse quello che ha presentato, relativamente alle larve delle *anofele*, le anomalie più forti. Infatti nel suo bacino si trovarono larve in regioni ove non si sarebbero sospettate, mentre mancarono in altre nelle quali tutto ne faceva presumere l'esistenza.

Ecco pertanto le località esplorate.

Piano delle Cinque Miglia (giugno). — A m. 1230 sul mare, presso Rivisondoli, ove le acque del paese, raccolte in un canale, attraversano, spandendovisi alquanto, un prato, formando acquitrino, fra le erbe; *molte anofele* e nessun culice.

Lo stesso si riscontrò, ma in minor numero, in un vasto pantano che, nel boschetto di fronte alla stazione di Roccaraso, occupa i dintorni di una ormai sparita sorgente solfurea. Si noti che il pantano è formato da acqua piovana e da colaticci del monte e non da acqua in qualsiasi modo mineralizzata.

Sorgente Siriente (giugno e settembre). — Questa a 9° di temperatura, nella pianura attorno a Pescasseroli, alla quota di m. 1160, forma acquitrini molto erbosi, distanti qualche centinaio di metri dal paese: numerose *anofele.*

Fosso Fondillo (settembre). — Presso il così detto Molino di Opi, a quota di m. 1070, in un ristagno formato dalle acque a 9°. 5, infiltrate sotto gli argini del Canale del Molino, che le deriva dal detto fosso, si trovarono numerosissime *anofele.*

Fiume Zittola (settembre). — Sotto il rilevato della ferrovia, a pochi passi dalla stazione di Montenero Valcocchiara, a m. 810 di quota, nell'acqua quieta, limpida, erbosa, numerosissime *anofele.*

Pantano di Montenero. [Valle della Zittola (settembre)]. — È un vasto pantano di oltre 70 ettari di superficie, che ricuopre la torbiera detta pure di Montenero, non suscettibile di proficua escavazione, nè vantaggiosamente bonificabile, per le speciali sue condizioni. Può dirsi tutto un covo di *larve* di *anofele* e nei punti più impantanati, di culici, le quali larve mancano affatto poi nei canali e ovunque l'acqua è mossa.

Fiume Aventino, influente del Sangro (luglio e settembre). — Vi furono trovate larve di anofele e nessuna di culici, ma quelle in piccolo numero e ristrette ad una sola località, cioè nei ristagni, presso l'alveo del fiume, delle limpidissime e fresche (8°. 5) sorgenti *Acque vive di Taranta*, in mezzo a fitte erbe. Mancarono affatto invece in ogni altro consimile ristagno a specchio libero, senza erbe.

Fiume Sangro (giugno, luglio e settembre). — Sorprese invece, stante la relativa abbondanza di larve in altre parti, l'assenza completa in tutta la pianura presso Castel di Sangro, meno elevata delle precedenti località e con ristagni estesi ed erbe rigogliose, ed in quella negli

ultimi chilometri di percorso, presso la foce, ove apparentemente favorevolissimo vi sarebbero le condizioni.

Veramente, tanto quest'anno, quanto l'anno scorso, si riscontrò lo stesso fatto in tutti i fiumi, dal Tronto al Sangro; cioè mancanza di larve presso il litorale, attribuita prima, per alcuni di essi, soltanto al fondo argilloso e sassoso, che non comporta la vegetazione, ed ora pure alla frequenza delle piene primaverili, che spazzano gli alvei quando più intensa è la deposizione delle uova di zanzare.

Bacino del fiume Trigno. — Le pianure presso la foce, ed ai lati di questo fiume, molto vaste, sono apparentemente bonificate, come fa credere il vederle, dopo alquanti giorni di siccità, asciutte completamente.

Ciò non ostante le febbri palustri ancora dominano con grande intensità lì attorno, ma la causa è da ricercarsi nel canale del Molino prossimo alla vecchia stazione di San Salvo, che rivolto qualche volta all'inaffiamento degli orti, riversa gli scoli o le perdite, formando ristagni d'acqua.

Infatti lungo il Trigno e nelle campagne adiacenti, non si rinvennero larve, neppure in qualche pantano per recenti piogge.

Invece relativamente abbondanti furono quelle d'*anofele*, e qualcuna di *culici* non nel canale predetto, che avendo acqua in moto non ne contiene, ma nei solchi dell'orto prossimo.

Laghi salati. *Lago di Lesina.* — Esplorati in due mesi diversi, cioè nel luglio e nell'ottobre, tanto il lago, quanto alcuni dei fossi laterali e diversi pantani, non si trovarono larve nè nel lago, nè ovunque l'acqua era salata, anche tanto debolmente da essere appena sensibile al palato.

Alcune di queste, del genere *anofele*, grosse, vivacissime, dimostranti perfetta vitalità, apparvero presso la foce del fosso La Fara, quando i cloruri erano appena nella proporzione del *0.8* per mille. Più entro terra, ove questa proporzione diminuiva, si riscontrò alternativamente, senza ordine alcuno, abbondanza e deficienza di larve. Così, appena dopo trovate le prime, non se ne rinvennero subito altre; poi più in là riapparvero numerosissime, per sparire nuovamente, e ricomparire or in un luogo, or in un altro.

Le ricerche furono estese al fosso detto *Canale la Fara*, a quello detto *Padre Francesco*, ai pantani di *Mezzanella*, alla valle Elce, agli stagni Grande e paludi prossime e ad altri fossi senza nome.

Lago di Varano. — Su questo lago poche ricerche si poterono fare perchè quando si era incamminati per recarvicisi avvennero pioggie torrenziali, che ingrossando i rivoli, spazzarono gli alvei, asportando quanto ivi si trovava e specialmente le larve.

Non ostante ciò però, nel luglio 1901 si potè riconoscere, similmente di quanto erasi riscontrato nel lago di Lesina, mancanza assoluta di larve di qualsiasi genere sia nelle acque salate, sia nei fossi di scolo delle campagne, pressò le foci, ove la salinità era ancora in proporzioni

apprezzabili al palato. Poche larve di anofele si trovarono in acque affatto dolci, nelle quali la proporzione dei cloruri non superava il 0.1 per mille.

Lago Salso. — Assenza assoluta di larve lungo le rive del lago e nel canale di comunicazione col mare, tanto nel luglio, quanto nell'ottobre.

Eguale assenza nei canali d'acqua dolce, ove le idrovore producono, lavorando saltuariamente, una qualche velocità, e nei quali le erbe non sono fitte.

Brulichio, nell'ottobre, di larve di culici in tutto lo specchio di un ristagno d'acqua piovana, sotto la chiavichetta della strada provinciale, di fronte all'ingresso del recinto ove sta il fabbricato delle macchine della bonificazione, e di larve di anofele lungo i margini (0.58 per mille di cloruri). Sotto questa chiavichetta nel luglio non vi era acqua. Assenza di larve nei canali di scarico, sotto le idrovore.

Dintorni di Manfredonia. — Presenza di larve di anofele in vari acquitrini sparsi nella campagna circostante (luglio ed ottobre).

Assenza presso la sorgente Pariti, il cui canale attraversa la strada provinciale Foggia-Manfredonia a 3 chilometri da questa seconda città, e assenza pure lungo tutto il fosso molto erboso che accoglie la detta sorgente.

Numerose e piccole larve di anofele in un acquitrino, a fianco del fosso, mezzo km. circa a valle del ponticello della detta strada.

Fiume Candelaro. — Abbondantissime larve di anofele in qualche punto dell'alveo del fiume Candelaro e nelle campagne adiacenti, ove in ottobre eranvi acquitrini, che in luglio mancavano completamente.

Lago di Salpi. — Ricercato nel mese di luglio tanto nel canale dell'Ofanto, quanto nei pantani prossimi e nei canaletti, e lungo le rive del lago, non fu rinvenuta alcuna larva.

Si noti che abbondanti culici si trovarono presso Trinitapoli, in una pozzetta di acqua di rifiuto di un pozzo o cisterna.

Molte larve di *anofele* furono trovate invece, sia nel luglio, sia nell'ottobre, presso l'alveo del Carapella, vicino al ponte della strada provinciale che da Manfredonia conduce a Cerignola.

Nell'ottobre seguente, dopo che abbondanti piogge avevano di già riempito i canali, si rinvennero in alcuni di questi, ove l'acqua era ferma e la vegetazione discreta presso le sponde ed in vari acquitrini, specialmente presso Trinitapoli, alquante larve di *anofele*, che mancarono di nuvo nel canale derivato dall'Ofanto, e lungo le rive del lago, anche dove l'acqua dolce di recente immissione non si era abbastanza mescolata con quella salata.

LAGHETTI DEI DINTORNI DI LECCE. *Laghetto di acqua dolce* (luglio). — Negli acquitrini che si formano sulle gronde di questo laghetto si trovarono alquante larve di *anofele*, che forse più numerose si sarebbero rinvenute, se più facili fossero state le ricerche, fatte da un pastore, unico abitante nomade dei dintorni. Nello specchio libero del laghetto non si rinvenne nulla.

L'acqua di questo, ottima di sapore, accusò 0.34 per mille di cloruri.

Laghetti di acqua salata. — Nessuna larva si rinvenne.

Stagno Grande salato. — Nessuna larva fu trovata nè nello specchio libero, nè fra le erbe nei dintorni, ove giungeva l'acqua salata.

Al nord-ovest, della marina di S. Cataldo, cioè verso Brindisi, altri laghetti salati s'incontrano, simili in tutto ai precedenti ed egualmente privi di larve di qualsiasi genere.

III. — LITORALE IONIO.

(Ottobre). Premettiamo che non tutti i corsi d'acqua compresi in questo litorale furono esplorati uno per uno, alla qual cosa si opponeva il tempo occorrente, in contrasto con le vicende pluviometriche, che quest'anno furono poco favoreveli allo sviluppo delle larve ed alle indagini sopra luogo. Neppure utile d'altronde sarebbe stato soffermarsi in molti luoghi, dimostrati dall'esperienza incapaci a favorire la vita delle larve, mentre maggior profitto arrecava una più diligente indagine nelle località apparentemente atte alla produzione malarica.

Fiumi da Taranto a Metaponto. — Quantunque un po' da per tutto le acque piovane possano soffermarsi, pure in questo tratto di litorale le condizioni veramente opportune alla produzione delle zanzare anofele si trovano soltanto nel Bradano, il quale presso la strada ferrata, per esempio, e da questa al mare, ha frequenti espansioni laterali nelle golene ed oltre le sponde, formando ristagni e pantani, ricchi di vegetazione. In ognuno di quelli esplorati si trovarono abbondanti le larve d'*anofele.*

Basento. — Presso Metaponto, regione molto malarica, il fiume non può avere, come non ha, larve nel suo letto, che è ghiaioso o sabbioso, e privo completamente di erbe e di ristagni. L'acqua inoltre, riunita in un solo solco, vi scorre con discreta velocità. Le larve di *anofele* invece furono abbondanti in qualche fossetto di scolo laterale, ove le piogge autunnali e fors'anche quelle estive, favorirono la vegetazione, mantenendovi a lungo le acque ferme ed impedendo l'essiccazione che vi avviene completamente durante i lunghi periodi di siccità. Altre larve furono trovate in qualche acquitrino sparso nelle campagne piane circostanti.

Torrente Cavone. — Questo torrente è poco favorevole alle larve, meno ancora del Basento.

F. Agri e F. Sinni. — Il contrario avviene alquanto dopo, e così prima della stazione di Montalbano, avanti cioè di pervenire al fiume Agri, si trovano nei cespugli e nella boscaglia, stagni ed impaludamenti erbosi, vasche d'acqua e qualche piccola sorgente; ossia condizioni tali

da poter ritenere tutta la località un covo di larve dei due generi, come lo sanno bene gli abitanti dei luoghi, e particolarmente le guardie di finanza, che quantunque acquartierate in posto elevato e difese dalle reticelle e dalle maschere, pur nondimeno, essendo inevitabili pel disbrigo delle loro speciali mansioni, le imprudenze, sono frequentemente colpite da gravi febbri malariche.

I due fiumi presentano nel loro alveo le medesime condizioni propizie alle larve. Ma dove veramente queste furono trovate estese ed intense, è nella fitta boscaglia che fra Montalbano ed oltre il Sinni, e poi un po' ovunque e fino alla spiaggia del mare, ricuopre quell'ampia pianura quasi orizzontale. In essa le acque piovane e quelle d'inondazione, non trovando declivi che le conducano negli alvei, formano ovunque stagni, pantani, pozzanghere, acquitrini, ecc., fra le fitte erbe, nascosti sotto i cumuli delle foglie cadute, in mezzo all'intreccio delle fitte sottili radici; ovunque insomma in tutta la grande distesa. Gli alberi disordinati e coi rami intrecciati, fanno riparo ai raggi del sole, impedendo all'evaporazione di prosciugare o restringere in qualche modo quegli allagamenti. Dopo ciò è superfluo dire che le zanzare *anofele* e *culici* vi regnano in modo così assoluto, da vedersene anche di giorno grande numero appiccicate alle staccionate della strada ferrata.

Le condizioni che abbiamo fin qui rappresentate, si ripetono, ora in un modo, ora in un altro, progredendo lungo il litorale, non più però con eguale intensità, mancando anzi in molte ed estese zone, fino che giunti presso Sibari si aggravano ancora.

Pianura di Sibari, fra il Crati e la Raganella. — Di questa regione potemmo fare uno studio abbastanza minuto, e perciò possiamo dare ampi ragguagli. La parte esplorata è quella compresa fra il torrente Raganella ed il Crati, con circa 10 chilometri di lunghezza e larga, fino al mare, 5 chilometri in media.

Lungo tutta la linea della strada ferrata, a destra ed a sinistra, nelle così dette casse di prestito, ristagna acqua limpida, fra le alte e rigogliose erbe. In nessun luogo, proprio in nessuno, mancarono le larve delle anofele, ove più, ove meno, abbondanti. In qualcuno poi erano addirittura legioni. Raramente invece si rinvennero i culici, forse perchè per le frequenti piogge del settembre e dell'ottobre, non si formarono putridi.

Fiumi Crati e Coscile. — Entro l'alveo di questi fiumi non si rinvennero larve, ciò che era naturale del resto perchè la discreta corrente e la portata relativamente grande, impedivano nel letto ghiaioso, i ripiani erbosi.

È inutile dopo quanto fin qui si è riferito, continuare in altre citazioni, le quali non apporterebbero nuove cognizioni a quelle numerose ormai acquistate. Solamente aggiungiamo che in tutte le fiumare, dal Crati a Reggio di Calabria, non si rinvennero larve di anofele, se non nei pochi casi in cui negli alvei si formavano ristagni con erbe. Abbondanti invece furono in qualche plaga, entro la campagna, quando si presentavano quelle speciali condizioni, tante volte ripetute.

Torrenti del promontorio di Aspromonte. — Attorno al promontorio di Aspromonte rarissime furono le larve di anofele, sia perchè gli alvei sono molto sassosi e puliti, sia principalmente perchè l'acqua è ovunque incanalata e condotta ad irrigare i vasti agrumeti che rivestono tutto il litorale.

Vasche d'irrigazione. — Qualche anofele si rinvenne frammischiata ad abbondanti culici, in varie vasche di raccolta, nelle quali l'acqua stagnava. Così fra Villa San Giovanni e Gallico, una di queste vasche, piena fino a metà di acqua limacciosa per erbe putrescenti, era popolata di larve del secondo genere e conteneva alquante anofele. Lo stesso si riscontrò presso Santa Caterina di Reggio, ed alcune anofele furono pure trovate in un piccolo acquitrino occasionale, alla sinistra del torrente Calopinace, presso Reggio.

IV. — LITORALE TIRRENO.

Fiume Mesima e suo influente Mammella. — Superfluo dire che nelle acque correnti non vi sono larve.

Il Mesima, con largo letto sassoso, ha le sponde quasi al livello della campagna. A tergo della spalla destra del ponte della strada ferrata, nel prospetto a monte, la corrente scavando nel riempimento formò una specie di fossa, ora convertita in piccolo acquitrino, con erbe sporche ai margini, e pulito in mezzo. In esso si trovarono abbondanti larve di *anofele* fra le erbe e di *culici* nel mezzo.

Pianura adiacente al Mesima. — La strada ferrata attraversa in rilevato tutta la pianura valliva, stesa fra i due fiumi, larga alquanti chilometri. Ai piedi delle scarpate sono aperti i fossi collettori delle acque piovane, le quali, quando i fiumi non sono in piena, vi ristagnano o vi si muovono lentamente, lasciando molte insenature in perfetta quiete, ove prosperano erbe palustri, sebbene la ripulitura vi si faccia frequentemente, facilitate nel loro sviluppo dal caldo clima della regione.

Nei fossetti, nelle cunette, nelle vasche, furono ovunque trovate *anofele* quando l'acqua era ferma, ed alle volte anche quando mancava l'erba, sebbene mai le pareti ne siano affatto prive. Anche i culici vi erano abbondanti.

Attraversata varie volte la linea, passando sotto i ponticelli, dappertutto si ebbero i medesimi risultati, che eguali furono in molti canaletti di scolo, esplorati nella campagna nuda o in mezzo a canneti ed alle piantagioni; ovunque insomma.

Torrente Mammella. — Nell'alveo del torrente Mammella che ha la portata di magra molto piccola, si formano più facilmente ristagni presso le sponde erbose. In molti di questi furono trovate abbondantemente le *anofele*. Senza dilungarci oltre, possiamo restringere le osservazioni col dire che la pianura bassa fra i torrenti Mesima e Mammella è tutta quanta intensamente infestata dalle *anofele* e dai *culici*.

Fiumi Sele e Tusciano. — Fra gli ultimi tronchi di questi due fiumi si svolgono le vaste pianure di Pesto e di Battipaglia, ben note per le intense infezioni malariche che vi dominano quasi tutto l'anno. Si voleva farvi perciò nel settembre e nell'ottobre, cioè nei mesi più favorevoli allo sviluppo delle febbri, ampie ricerche, ma ne fummo in gran parte impediti dalle continue, può dirsi, dirotte piogge, che ci costrinsero a limitare le esplorazioni a quelle poche località che rimasero accessibili, mentre vaste plaghe non furono praticabili per i quasi generali impantanamenti, ed anche nelle altre restammo un giorno solo, scacciati da nuovi temporali. I risultati del resto furono tali da non richiedere più numerose escursioni. Infatti in ogni ristagno o acquitrino erboso, le *anofele* e non infrequentemente i *culici*, furono abbondanti.

Da segnalare alcune pozzanghere dovute alle perdite dal canale industriale di Battipaglia, presso il ponte sul Tusciano, e alquanti paduli ai piedi dei rilevati della strada ferrata.

Presso il Sele poi numerosi apparvero i luoghi ove pullulavano le larve, tanto da togliere la possibilità di una particolareggiata indicazione.

In esso però e nel Tusciano, nessuna larva si rinvenne entro l'alveo, e lungo le sponde, sebbene in qualche specie di golena erbosa le condizioni vi fossero favorevoli. Ma probabilmente le forti portate quasi di piena, passate qualche giorno prima, avranno spazzato tutto nel loro cammino.

R. Lagni di Caserta. — In una breve escursione nei dintorni di Caserta si potè rilevare che non molto abbondanti si trovano le anofele nei Regi Lagni, forse per la solerte manutenzione che li tiene sgombri dalle erbe nel fondo e per le eccezionali piogge di quest'anno, che li avranno frequentemente spazzati. Però alquante ne furono trovate, nelle solite acque ferme, nei fossi che fiancheggiano la strada da Caserta a Marcianise.

F. Sarno. — Sul finire del giugno 1901, avendo avuto occasione di intrattenermi qualche giorno presso la sorgente Foce di Sarno, vi feci alcune ricerche le quali svelarono qualche scarsa e piccola larva di anofele soltanto in un laghetto quasi sepolto dalle erbe, con acqua fredda, limpidissima.

Sorgenti dolci e solfuree di Telese. — Presso le sorgenti solfuree di Telese nulla fu rinvenuto, mentre abbondanti anofele brulicavano nei solchi di qualche orto, innaffiato con le acque dolci delle grosse polle lì prossime.

F. Calore. — Nel Calore, presso Benevento, le ricerche diedero risultati negativi.

***

Con questi ultimi cenni poniamo fine al diario delle località esplorate e dei risultati ottenuti nel 1901, avvertendo che nel bacino dell'Arno ricercammo, più specialmente nel mese di agosto;

nel litorale Adriatico vi facemmo quasi ovunque due esplorazioni, nel luglio e nell'ottobre, ed in qualche località anche tre, cioè pure nel giugno, come nei bacini del Sangro e del Tronto, mentre nel litorale Ionio e in quello Tirreno, ossia da Taranto allo stretto di Messina, e da qui al Volturno, furono fatte tutte in ottobre e solamente nel Sarno, verso la fine di giugno.

Osserviamo in ultimo che tanto dalle esplorazioni dell'anno scorso, quanto da quelle di quest'anno, il mese di ottobre si dimostrò il più propizio allo sviluppo delle larve, forse perchè queste trasformandosi prontamente in insetti nei mesi più caldi, poco tempo allora rimangono nelle acque, mentre coll'andare incontro alla stagione fredda la metamorfosi più non si produce, ed esse rimangono probabilmente inerti nell'inverno fino ai tepori della primavera.

Ciò spiegherebbe pure la frequenza di larve nel mese di novembre in acque molto fredde, quando non si rinvengono più nei dintorni zanzare di nessun genere, se non nei luoghi chiusi.

La Malaria in Olanda

Osservazioni del dott. H. J. M. SCHOO.

Al principio del secolo passato l'Olanda era ancora in preda a fortissime epidemie di malaria. Nell'ultimo decennio invece la malaria diminuì di estensione e di intensità, e pareva che si spegnesse interamente, perchè i piccoli focolai dove regnava ancora erano in continua diminuzione.

Ma negli ultimi cinque anni i casi di malaria nei singoli fòcolai sono aumentati, ed è assai probabile che questi focolai si estendano e riconquistino tutta l'Olanda come una volta. È da osservare inoltre che ora, come è venuto a constatare anche il prof. Celli, non si trovano che casi di terzana lieve. Ci devono però essere anche casi di quartana, ma non mi fu possibile vederne.

Sicchè dunque le mie ricerche non si occupano che della terzana lieve, il che può essere da qualche punto di vista non meno interessante.

Ormai è dimostrato che le febbri intermittenti possono esistere, dove l'acqua è adatta per servire di nido alle *anopheles.*

Queste acque non mancano in Olanda. Che meraviglia dunque se la malaria è epidemica in Olanda dove le acque stagnanti e le paludi sono in numero tanto considerevole? Vi sono le provincie del Nord e del Sud, Zeeland, Groningen, Friesland dove queste acque sono in abbondanza più che nelle altre provincie, e questa sarà anche una causa che contribuisce a renderle più infette delle altre.

Parte di queste provincie sono isole (Zeeland e Sudholland); le altre provincie sono in parte circondate dal mare. Tutte sono traversate da canali e da fossi d'acque stagnanti. Il mare ed i fiumi sono in certe parti più alti del paese abitato e coltivato, e lo inonderebbero ad

ogni momento se gli Olandesi non avessero con grandi spese erette delle dighe per impedirlo, imitando così la natura che con dune naturali protegge il paese dalle onde del mare. Il mantenimento di queste dighe costa ogni anno somme enormi.

L'impiego della terra come torba per usi domestici è causa di stagni dell'acqua sotterranea, che sono nidi di zanzare.

Se non ci fossero i molini a vapore (fig. 1), e i molini a vento, grandi (fig. 2), e piccoli (fig. 3), che sottraggono l'acqua continuamente e la portano nei canali grandi, se non ci fossero le magnifiche opere per rompere la forza dell'acqua, l'Olanda ridiventerebbe



Figura 1.

il grande padule che è stata una volta. Prima invece, quando non si avevano che i molini a vento si stava peggio, oggi coi molini a vapore si può bene regolare l'andamento dell'acqua ed impedire le grandi inondazioni.

Malgrado si viva in mezzo a tant'acqua, ci manca l'acqua potabile. L'acqua dei pozzi è salata e ferruginosa. L'acqua dei canali è salata. Le piccole città non possono fare la spesa d'un acquedotto fin alle buone sorgenti delle dune; si beve dunque l'acqua di pioggia. che si accumula sul tetto ed è condotta per mezzo di tubi nelle ci-

sterne che sono abbastanza grandi per contenere l'acqua che basti ad una famiglia.

Ma già prima che l'acqua di pioggia entri nelle cisterne è sporcata con una quantità di cose estranee, e fra l'altro con uova di *culex* e di anofele. Queste sono deposte nelle spaccature dei tubi del tetto continuamente pieni d'acqua e sono trasportate coll'acqua corrente dal tetto nelle cisterne. L'acqua stagnante delle cisterne in muratura è il vero nido delle anofele. Basta alzare il coperchio d'una di queste cisterne (il che accade ogni volta che uno ha bisogno



Figura 2.

d'acqua), e subito si vedono uscire una quantità di anofele, e l'acqua stessa contiene sovente un numero considerevole di larve e ninfe.

Le famiglie povere non hanno cisterne, ma botti (fig. 4) per prendere l'acqua di pioggia, sono sempre piene di larve di zanzare. In molti paesi queste botti sono portate dentro casa, in alcuni casi nella stessa camera da letto, dove dorme tutta la famiglia.

Il fatto che le febbri sono più frequenti là dove ci sono fiumi e

paduli salati ci mostra che anche questi contribuiscono allo sviluppo della malaria.

Le febbri di malaria non sono sparse ugualmente per tutta l'Olanda. Disgraziatamente non abbiamo l'obbligo di denunciare i singoli casi di malaria come in Italia. Non posso dunque dare cifre esatte. Ma l'opinione generale è che la malaria è più diffusa nelle isole del Zeeland e nel Nord e Sudholland, e specialmente poi nelle parti basse di queste provincie. Gli abitanti dei paesi sulle dune, dove c'è meno acqua stagnante, e più acqua corrente sono meno esposti alle febbri.



Figura 3.

Ma non tutte le parti basse sono ugualmente infette.

I così detti *polders* dove l'acqua del mare si unisce all'acqua dolce, sono considerati in Olanda come favorevoli allo sviluppo della malaria. Tutti i *polders* erano grandi laghi, che furono prosciugati e sono adesso coltivati.

Siccome in Italia questi *polders* sono poco o niente conosciuti ne voglio fare una breve descrizione.

Il *polder* è circondato da dighe, che non sono interrotte che da porte per fare entrare od uscire le barche ed i vapori pei canali

che lo attraversano. Le dighe sono dal loro lato interno ed esterno circondate da canali.

Il canale esterno sta in comunicazione diretta ed indiretta col mare e contiene l'acqua di mare più o meno pura. Anche l'acqua dei canali interni e dei canali che traversano i *polders* contiene sale. Basta dire che le strade più basse d'estate sono tutte bianche di sale cristallizzato. Questo è il residuo dell'acqua dei *polders*, che si è alzata fino al livello della strada; qui, svaporata l'acqua, rimane il sale.

Le diverse parti del *polder* non hanno lo stesso livello così come



Figura 4.

prima il lago non aveva da pertutto la stessa profondità. Da tutte queste parti piccoli molini a vento (fig. 3) estraggono l'acqua di pioggia per portarla nel canale circondariale interno. Quest'ultimo raccoglie l'acqua che migliaia di grandi molini a vento (fig. 2) gli conducono per impedire l'inondazione del paese. Il livello del canale circondariale a forza dei molini a vapore (fig. 1) è regolato in ognuno secondo ordini speciali del ministro della sorveglianza delle acque. Press' a poco 10 anni fa, quando avevamo soltanto molini che dipendevano interamente dal vento, era impossibile regolare l'acqua

e c'erano continuamente delle inondazioni. Si credeva che queste fossero causa della malaria; e quando dopo l'introduzione delle macchine a vapore la malaria spariva, lo si attribuì al nuovo sistema della regolazione delle acque, ma poi con tutto ciò la malaria è risorta.

Anzi alcune diecine di anni fa hanno provato di abbassare gli specchi d'acqua dei *polders*, credendo che abbassando i canali il paese diventerebbe più alto. Invece è accaduto il contrario: il paese si è abbassato insieme ai canali come una specie di spugna dalla quale si leva l'acqua. Difatti il terreno è composto di torba, e gran parte del paese è così paludoso, che camminando, la terra si scuote.

Ogni *polder* ha il suo governo autonomo. I membri della direzione del *polder* sono eletti dagli abitanti del *polder* stesso. Ogni abitante ha diritto di votare. Il *polder* ha una certa autonomia e la direzione ordina quanto bisogna che ognuno degli abitanti paghi per la manutenzione, quando i molini debbono lavorare, ecc.

Quando piove molto (inverno, autunno) le acque dei *polder* contengono meno sale, che nelle grandi siccità dell'estate.

L'estate, quando c'è poca acqua nel canale interno, si fa entrare l'acqua del canale esterno (acqua di mare mescolata) e così d'estate il contenuto di sale è maggiore che d'inverno. Ho fatto fare le analisi quest'anno delle diverse acque interne ed esterne.

I risultati in media sono:

	Residuo fisso	Sostanza minerale	Na Cl.
Acqua di mare (mare del Nord)	3,254 °/₀	2,900 °/₀	2,644 °/₀
Acqua esterna	0,794 °/₀	0,667 °/₀	0,656 °/₀
Acqua interna	0 736 °/₀	0,641 °/₀	0,680 °/₀

Ho trovato durante tutto l'estate delle larve di *anopheles* e di *culex* nei due canali, ma specialmente nel canale interno dove l'acqua ristagna e non corre mai. Si può facilmente aumentare artificialmente la quantità di sale. Questa misura profilattica, indicata per primo dal Celli, sarebbe molto adatta per noi, perchè io stesso mi sono persuaso che le larve muoiono in acque molto salate (1). Un mio collega mi scrisse che dopo che hanno cominciato a lasciare entrare l'acqua di mare nel *polder* abitato da lui, la malaria ha di molto diminuito. Ed è probabile, perchè questa misura ha diminuito il numero delle anofele.

La città di Amsterdam è già un buon esempio dell'efficacia

(1) V. Questi *Annali*. Vol. IX 1899, Celli, Casagrandi; e Vol. XI 1901, Perrone, Ficalbi, Celli.

dell'acque salate come mezzo profilattico contro la malaria. Prima l'acqua dei canali nell'interno della città era dolce. Allora ci erano molti casi di malaria. Adesso per misure sanitarie si fa entrare l'acqua di mare nei canali e la malaria è quasi sparita, malgrado che nei dintorni della città esista ancora. Le anofele non si trovano più che alla periferia della città.

Però non è possibile introdurre da pertutto nei *polders* acque salate (acque di mare) perchè s' impedisce all'erba dei prati di crescere e si nuoce così all'allevamento del bestiame.

Come dissi già sopra l'acqua dei canali interni contiene più larve di anofele che l'acqua dei canali esterni. Questo fatto non è senza interesse per l'epidemiologia, perchè nel mio paese ogni casa è situata sopra un'isola, circondata cioè per quattro od almeno per due parti da acqua dei canali interni.

L'altezza di tutta la provincia Nordholland è tale che quasi tutta la sua superficie sta sotto al livello del mare per — 4 m. Soltanto il territorio delle dune lungo la spiaggia marina è situato sopra il livello del mare. Ma la duna più alta arriva soltanto a 60 m., e se ci fosse un'inondazione ben pochi paesi di Nordholland potrebbbero rimanere asciutti. Anzi nei nostri progetti militari di difesa è compresa l'idea che in caso di guerra tutta la provincia di Nordholland coll'eccezione di Amsterdam e dintorni sarebbe artificialmente inondata. Le febbri malariche nell'esercito nemico saranno allora un fattore notevole di sconfitta, come ci dimostra la storia.

Adesso hanno fatto il progetto di asciugare lo Zuidersee, questo grande braccio di mare morto. L'Olanda che ha un'estensione di 599 miglia quadrate, ne guadagnerebbe allora 30 di terreno fertile; facendo così la migliore forma di espansione senza guerra.

Il suolo di Nordholland è torba, in una piccola parte tufo e sabbia, ma del tutto alluvionale.

Il clima è marittimo, cioè nell'estate meno caldo, e nell'inverno meno freddo che nella Germania centrale. La primavera è più fredda dell'autunno. L'umidità dell'aria è grande e le forti nebbie s' alternano colla pioggia.

Ecco la media delle pioggie in mm:

gennaio 48. 1	luglio 76. 6
febbraio 44. 7	agosto 82. 7
marzo 44. 7	settembre 67. 1
aprile 38. 8	ottobre 72. 8
maggio 50. 1	novembre 59. 1
giugno 55. 2	dicembre 62. 7

191 giorni dell'anno piove e la quantità media delle pioggie è nel centro del paese 692 mm. per anno.

La temperatura media è presso a poco + 10° C. Nell'inverno — 15° C., nell'estate + 30° C., sono le temperature più alte e più basse.

Temperatura media dei mesi.

Gennaio	+ 1.13° C.	Luglio	+ 18.41° C.
Febbraio	+ 2.86	Agosto	+ 18.00
Marzo	+ 4.85	Settembre	+ 15.00
Aprile	+ 9.31	Ottobre	+ 10.36
Maggio	+ 13.60	Novembre	+ 5.10
Giugno	+ 16.89	Dicembre	+ 2.61

Temperatura giornaliera più alta degli anni 1849-1896.

Gennaio	+ 12.6° C.	Luglio	+ 33.1° C.
Febbraio	+ 14.0	Agosto	+ 34.4
Marzo	+ 20.5	Settembre	+ 29.5
Aprile	+ 25.9	Ottobre	+ 24.5
Maggio	+ 30.1	Novembre	+ 17.6
Giugno	+ 33.9	Dicembre	+ 14.1

La fig. 5 ci mostra l'andamento delle temperature massima e minima nei mesi da marzo a dicembre, avvertendo che i gradi 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 Farenheit corrispondono a — 6.67, — 1.11, + 4.44, + 10.00, + 15.56, + 21.11, + 26.67 centigradi.

La popolazione nella provincia Nordholland è di 14,410 per miglio quadrato, ed è press'a poco 2|5 nelle città.

La storia delle epidemie malariche in Olanda è molto interessante, ma non mi pare qui il posto adatto per dirne troppo. Vi sono state delle epidemie di terzana, di quartana e di perniciosa o unite o separate. Al principio del XIX secolo esisteva una forte epidemia di febbri perniciose, il numero delle quali ha però sempre diminuito. Negli ultimi anni non ne vediamo più che i casi importati dalle nostre colonie.

Le cifre dei casi di morte ce ne mostrano chiaramente la diminuzione:

1792-1801	30	per mille erano i morti	di perniciosa.
1802-1811	53	id.	id.
1812-1821	40	id.	id.
1822-1831	30	id.	id.
1832-1841	33	id.	id.
1842-1851	21	id.	id.
1852-1861	16	id.	id.
1861-1871	9	id.	id.

Il numero degli abitanti era nei Paesi Bassi nel

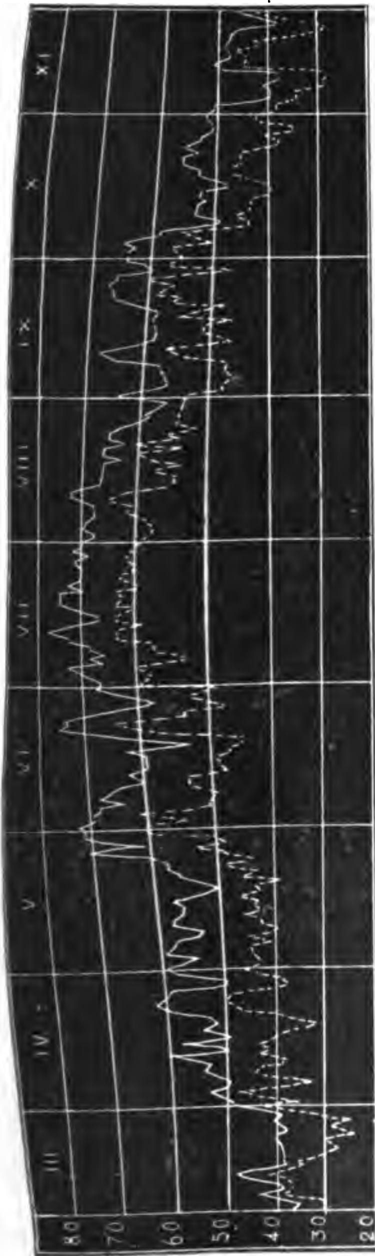


Figura 5.

31 dicembre 1885 4,336,012
1° gennaio 1899 5,074,631

di questi sono morti
nel 1886 103,046
nel 1899 94,611

E di questi sono morti nel.

1885	di malaria	306,	di perniciosa	136
1886	id.	204,	id.	131
1887	id.	250,	id.	122
1888	id.	212,	id.	106
1889	id.	179,	id.	78
1890	id.	174,	id.	59
1891	id.	88,	id.	24
1892	id.	93,	id.	21
1893	id.	78,	id.	16
1894	id.	76,	id.	12
1895	id.	93,	id.	6
1896	id.	90,	id.	5
1897	id.	65,	id.	5
1898	id.	79,	id.	4
1899	id.	30,	id.	2

Questi numeri però non sono esatti. Negli ospedali militari ci sono compresi anche i morti di perniciosa che vengono ogni anno dalle Indie, e muoiono di cachessia palustre.

Quando studiavo ad Amsterdam (1896-97) ci si insegnava che la malaria non esisteva più in Olanda, ed un ammalato di malaria era una cosa rarissima. Si credeva potere attribuire questo cambiamento alle misure igieniche prese. Disgraziatamente le cose non stanno più a questo punto, perchè negli ultimi 5 anni i casi di malaria hanno, come ho detto, aumentato, almeno nella provincia di Nordholland.

Ho fatto nel 1900 una inchiesta ed ho trovato che in molti

luoghi della provincia è accaduto lo stesso fatto che nel mio paese, cioè che da 3 a 5 anni la malaria è riaumentata ed ha riconquistato dei territori che n'erano immuni.

Confrontando i casi di malaria colla carta geologica, ci accorgiamo che le febbri sono specialmente nei paesi più bassi, dove le acque sono in grandi quantità ed anche salate, mentre i luoghi più elevati ne sono immuni.

Non avendo che casi di terzana lieve non ci sono casi di morte o assai di rado. Ho l'idea che le vecchie notizie della malignità delle febbri di terzana e quartana dipendano in parte dalla terapia impossibile che era usata allora. Allora si vedevano casi di cachessia ed idropisia grave che adesso non troviamo quasi più.

La perniciosa ch'è da noi completamente scomparsa, per lo passato fu soltanto epidemica d'estate ed autunno con eccessivo e prolungato caldo.

È interessante il fatto che abbiamo avuto delle epidemie di febbri terzane e quartane con intervalli senza malaria.

Per ispiegare queste epidemie staccate bisogna aggiungere che forse ci saranno sempre stati dei focolai isolati di malaria latente, ma che non sono forse divenuti epidemici che quando la temperatura e la quantità delle *anopheles* erano per un certo tempo sufficienti.

Non abbiamo poi in ogni estate la temperatura per un certo tempo abbastanza alta per fare sviluppare i parassiti nello stomaco delle zanzare.

Il numero delle anofele oscilla anche molto, a causa del clima incostante in primavera. Nella primavera il freddo ed il caldo si dànno il cambio.

Nelle giornate più calde le femmine escono per deporre le uova. Se viene ancora un grande freddo, di queste uova non rimane niente, perchè i geli di notte uccidono certamente le larve, come potetti osservare quest'anno.

Tutte queste larve uccise saranno milioni e milioni d'anofele di meno nell'estate prossima.

Ho visto io stesso lo sviluppo d'una epidemia di malaria da un focolaio di malaria latente.

Nel mio paese 30 anni fa predominava la quartana, e la terzana era minima. Poco a poco la quartana ha diminuito, la terzana rimase come era, ma anche essa forse diminuiva. Fino al 1897 ci sono sempre stati dei casi di malaria, sebbene assai rari. I medici che abitano qui da 30 anni e che hanno visto nei primi anni centinaia

di casi di quartana e terzana, non ne vedevano più che la decima parte.

Ma negli ultimi 5 anni tutto ha cambiato. Il numero dei malarici è cresciuto col numero delle anofele, cioè le prime ad aumentare di numero furono le zanzare.

Negli ultimi tre anni la malaria si è estesa nei paesi vicini dove certamente, da 20 anni, non vi erano più stati casi di febbri. Sono riuscito già a vedere a quale distanza la malaria si è estesa, e sono curioso di vedere se si estenderà nel 1902 ancora di più.

Ho osservato in tutta la mia clientela: nel 1897 appena 20 casi, nel 1898 e 1899 molti di più, nel 1900 294 e nel 1901 478 di terzana primitiva.

Di 466 casi, 342 erano casi di terzana semplice, 124 di terzana doppia.

Esiste forse ancora un'altra origine di questi focolai latenti, ed è nei militari e negl'impiegati reduci dalle nostre colonie. C'è poi il grande numero di marinai infetti di malaria che si mescolano alla popolazione.

Il numero dei malarici nelle nostre colonie dell'India dell'Est è grandissimo. L'esercito coloniale consiste di 34,000 uomini, 15,000 dei quali europei, il resto indigeni. La malaria colpisce ogni anno l'80 % degli europei ed il 74 % degli indigeni. La mortalità di malaria degli europei è il 0,616 % ed il 0,644 % degli indigeni.

Non tutti i malarici ritrovano la salute nei sanatori, situati nelle montagne sopra Giava. Molti tornano in Olanda col sangue pieno di plasmodi e soffrono di recidive. Offrono così alle anofele nuove sorgenti d'infezione. Le semilune qui non trovano però sempre le condizioni adatte pel loro sviluppo. La temperatura nostra più alta dell'estate è per esse forse troppo bassa. Ma se venissero delle estati con temperature molto alte queste persone sarebbero forse capacissime di divenire l'origine d'un focolaio di malaria grave, come è accaduto probabilmente negli anni precedenti.

I parassiti della terzana lieve e della quartana invece trovano condizioni favorevoli. I loro ospiti diventano centro d'un focolaio di malaria come lo so di sicuro dai casi osservati dentro un ospedale.

La scomparsa della malaria si è attribuita oltrechè al miglioramento delle condizioni igieniche, in parte anche al grande uso di chinino. Negli ultimi decenni il prezzo di questo rimedio si è molto ribassato. Ho combattuto anch'io l'estensione dell'epidemia con lunghe e forti cure di chinino, ma la malaria è cresciuta come se non avessi fatto niente. Nel vicino villaggio Wormerveer il dottore Kor-

teweg disinfetta da anni gli ammalati con cure prolungate e rigorose di chinino, però malgrado questo l'epidemia aumenta là come nei luoghi dove non si dà che poco chinino e per breve tempo.

Non posso dunque credere all'influenza profilattica che Koch attribuisce al chinino. Come mai è possibile che la profilassi di chinino riesca a Stephansort, quando noi in Olanda con tutta l'applicazione del chinino non riusciamo neanche ad impedire l'estensione dell'epidemia?

E poi, come possiamo forzare la gente a chinizzarsi? E sfuggirebbero sempre moltissime persone che non fanno l'impressione d'ammalati, e hanno lo stesso parassita nel sangue, malgrado che non avvertono neanche la malattia. Il prof. Herz di Amsterdam nella sua Monografia (1) ha descritto questa forma tipica olandese di malaria latente. Questa malattia è generalmente conosciuta in Olanda ed è volgarmente chiamata « Binnenfieber » (febbri interne) in confronto coi parosismi di febbri chiamati « auswärtige Fieber » (febbri che vengono da fuori) che si possono oggettivamente provare.

Ho trovato molti parassiti specialmente gameti nel sangue di quelli che soffrono di Binnenfieber. Una piccola causa basta per avere in questi casi un accesso acuto: p. e. cadere nell'acqua. Il nostro paese è così pieno d'acqua che i nostri figli vivono come una specie di anfibi e cadono spesso involontariamente nell'acqua. Queste cadute sono seguite da febbri di malaria regolare.

Questi ammalati sono un grande pericolo per l'ambiente. Siccome non si sentono male non prendono le medicine e non è possibile per il medico pratico controllare tutta la popolazione facendo regolarmente l'esame del sangue di questi cronici apparentemente sani.

I casi primitivi si trovano sul principio di maggio, e quasi sempre in case dove sono state delle recidive.

Posso assicurare trattarsi di casi primitivi e non recidivi perchè conosco ogni singolo caso di malaria nella mia clientela. Poi ci sono state delle persone che sono venute al principio dell'anno da paesi immuni. L'anno prossimo spero di potere ancora studiare meglio come si ricongiungano le recidive d'un anno colle infezioni nuove dell'anno successivo.

Sono medico condotto di Krommenie e suo circondario. Nel 1901 ho visto 218 casi di terzana primitivi nel solo mio villaggio. Questo ha press'a poco 2000 abitanti.

(1) Ziemssen', Handbuch der spec. Pathologie und Therapie. 1877, B. 2.

Di questi 218 casi (t03 uomini, 115 donne) 48 erano recidivi dell'anno passato, che avevo visto io stesso, 11 persone dichiararono di avere avuto febbri e di avere preso il chinino senza consultarmi o di essere state curate da altri medici.

In molti di questi casi si potette controllare esattamente il tempo intermedio fra l'ultima recidiva del 1900 e la prima del 1901.

1 caso	120	giorni	1 caso	229	giorni
1 »	130	»	2 casi	230	»
1 »	146	»	2 »	233	»
1 »	150	»	1 caso	336	»
1 »	153	»	1 »	240	»
1 »	160	»	2 casi	252	»
1 »	171	»	2 »	263	»
I »	174	»	1 caso	279	»
1 »	194	»	1 »	293	»
1 »	210	»	1 »	298	»
1 »	212	»	1 »	301	»
1 »	217	»	1 »	307	»
1 »	223	»	1 »	320	»
1 »	225	»	1 »	346	»
2 casi	226	»	1 »	365	»
1 caso	227	»	1 »	368	»

1 caso 423 giorni.

Alcune di queste recidive possono anche essere infezioni nuove, ma non si sa come differenziare queste da quelle.

Secondo l'età i casi si distribuiscono nella maniera seguente:

0-1	anno	14	9-10	anni	8
1-2	anni	13	1-10	»	83
2-3	»	10	10-20	»	35
3-4	»	11	21-30	»	43
4-5	»	3	31-40	»	27
5-6	»	7	41-50	»	13
6-7	»	5	51-60	»	13
7-8	»	9	61-70	»	2
8-9	»	3	10-70	»	135

Le persone dai 15 ai 30 anni erano le più colpite.

I 218 casi erano diffusi in 137 abitazioni nel modo seguente:

In	80	abitazioni . .	1 caso	80
In	39	» . .	2 casi	78
In	13	» . .	3 »	39
In	4	» . .	4 »	16
In	1	» . .	5 »	5
	137			218

Secondo la stagione i casi erano così distribuiti:

		Recidivi	Primitivi	Totale
Marzo . .	17-24	4	0	4
» . .	24-31	4	0	4
Aprile . .	1- 7	5	0	5
» . .	7-14	6	0	6
» . .	15-21	3	0	4
» . .	22-28	4	1	5
Maggio . .	28- 5	3	0	5
» . .	5-12	2	3	5
» . .	12-19	4	5	11
» . .	19-26	2	5	11
Giugno . .	26- 2	2	5	14
» . .	2- 9	3	5	9
» . .	9-16	2	5	14
» . .	16-23	4	5	15
» . .	23-30	0	5	10
Luglio . .	30- 7	3	3	9
» . .	7-14	1	8	12
» . .	14-21	0	7	12
» . .	21-25	2	10	13
» . .	25- 4	3	9	12
Agosto . .	4-11	1	5	10
» . .	11-15	0	8	13
» . .	15-28	0	11	19
Settembre .	25- 1	0	6	16
» . .	1- 5	1	9	15
» . .	5-15	0	1	3
» . .	15-22	0	3	6
» . .	22-29	0	3	10
Ottobre . .	29- 6	0	3	7
» . .	6-13	0	4	10
» . .	13-20	0	5	7
» . .	20-27	0	5	11
Novembre .	27- 3	0	2	5
» . .	3-10	0	2	4
» . .	10-17	0	1	4
» . .	17-24	0	1	2
Dicembre .	24- 1	0	2	2
Totale . . .		59	159	314

Ho disposto i suddetti casi in una curva nella fig. 6, e confrontando questa curva con quella delle temperature (fig. 5) si ha un quadro esatto dello sviluppo dell'epidemia. Si noti che la curva superiore nella fig. 6 rappresenta il totale dei casi recidivi e primitivi del 1900 e 1901, la curva media (punteggiata) rappresenta i casi primitivi del 1901, la curva inferiore rappresenta i casi recidivi del 1901. Ho trovato che la temperatura per lo sviluppo dei plasmodi deve essere press'a, poco 16° C. Questo dato corrisponderebbe coll'andamento dell'epidemia.

L'11 aprile 1900 fu la prima volta che la temperatura è arrivata a 16° C., ed il 5-12 maggio ha principiato la nuova epidemia, già una settimana prima abbiamo avuto il primo caso sicuramente primitivo.

Bisogna però osservare che la temperatura dentro le case può essere superiore di qualche grado alla temperatura di fuori.

In 77 recidive che ho avuto ho provato di applicare diversi

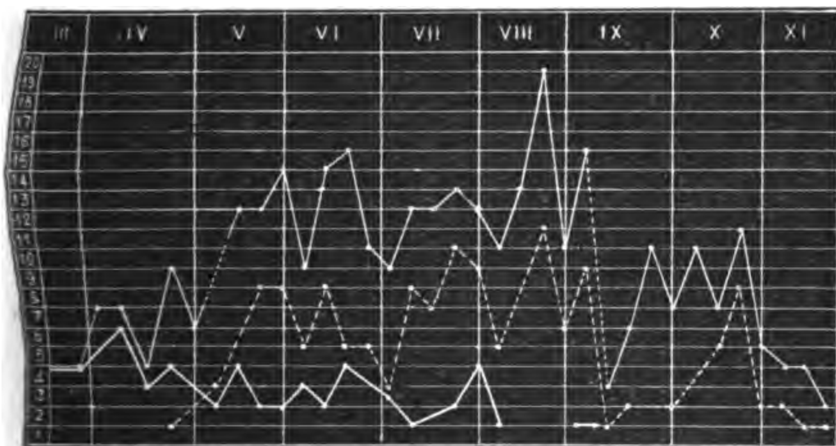


Figura 6.

metodi per dare lungamente il chinino in dosi alte. Il numero delle recidive era:

1	recidiva	in	53	persone
2	recidive	»	16	»
3	»	»	5	»
4	»	»	3	»

Dopo la seconda recidiva davo il chinino energicamente per lungo tempo.

Però malgrado lunghe cure intense col chinino ebbi ancora casi di recidive. Per esempio, uno ebbe ancora dopo 163 giorni delle recidive, malgrado che avesse preso nei primi 30 giorni 1 grammo di idroclorato di chinino per giorno, poi ogni 10-11 giorni 1 grammo per giorno e per dose.

Dopo 140 giorni ha cessato questa cura ed ha avuto ancora una recidiva dopo altri 23 giorni.

***

Qui in Olanda abbiamo già adottato le reti metalliche contro le zanzare, senza sapere e senza volere così anche proteggerci dalla malaria.

La piaga delle zanzare è in alcuni distretti terribile, come p. e. ad Amsterdam, che si confronta sempre con Venezia non soltanto per i numerosi canali, ma anche pel numero delle zanzare. Anzi come a Venezia, le zanzare ad Amsterdam sono quasi tutte culex e c'è pochissima malaria. Da secoli si adottano le reti metalliche contro le zanzare. Disgraziatamente non si mettono che quando le zanzare cominciano a molestare e molte persone delle famiglie sono già state punte. Giammai sono applicate alle case dei poveri perchè costano troppo, e questa è una delle ragioni che specialmente la povera gente in Olanda soffre di malaria.

Considerando le oscillazioni dell'epidemia si poteva anche pensare ad una certa immunità delle anofele olandesi all'infezione malarica.

Nei miei primi esperimenti non mi era possibile infettare le anofele col sangue anche pieno di gameti e cominciavo già a credere a questa immunità, quando mi accorsi che causa di questa sterilità era il mangiare delle frutta acide prima e dopo la puntura. Non nutrendo le zanzare che coll'acqua chiara e dando loro soltanto quattro giorni dopo la puntura il melone (frutto nè acido nè dolce) il risultato era costantemente positivo, se tutte le altre condizioni erano buone. Così pochissime di quelle infettate artificialmente morirono.

Il concetto generale è che la temperatura ha una grande influenza sullo sviluppo dei parassiti nello stomaco delle zanzare.

Nei paesi nordici come l'Olanda la temperatura è decisiva per lo sviluppo delle varie forme di malaria. Secondo Hirsch il minimo di temperatura per avere casi di malaria è di 15-16° C. Bisognava dunque costatare con anofele olandesi la temperatura minima necessaria per lo sviluppo degli anfionti o sporonti.

Le mie ricerche furono le seguenti:

Le zanzare in numero di 20 furono conservate in bottiglie con apertura larga (alte 12 cm., diametro 7 cm.) coperte da garza idrofila.

Non erano mai nutrite con frutta, e fino a 4 giorni dopo l'infezione non fu dato loro che acqua chiara, e poi meloni, mai sangue d'uomo o d'animale.

Dopo essere state in cattività le anofele pungono appena applicate alla pelle della persona. Aspettavo sempre fin che le anofele avevano succhiato tanto sangue che usciva dall'ano, segno che non ne potevano più contenere. Siccome non ho trovato nella letteratura osservazioni su quella goccia di sangue che esce dall'ano, ho provato di raccoglierla ed ho trovato che contiene meno globuli rossi, che il sangue della persona punta, anzi, in alcuni casi, quasi affatto.

Probabilmente le zanzare spremono il siero dallo stomaco mentre che trattengono i globuli rossi. Questi nello stomaco della zanzara sarebbero più che nel sangue circolante.

Mi pareva anche interessante sapere quanto sangue succhiavano le anofele. Ognuna delle zanzare fu addormentata in un tubo di vetro col cloroformio e pesata, poi messa per due ore per riprendere nel termostato e poi applicata alla pelle. Le anofele pungevano come di solito. Furono trovati i numeri seguenti:

	Prima	Dopo	Aumento
Peso in mg.	2.4	4.5	+ 2.4
Id.	2.5	5.2	+ 2.4
Id.	1.9	4.7	+ 2.5
Id.	3.1	4.6	+ 1.5
Id.	3.1	5.7	+ 2.4
Id.	3.5	6.4	+ 2.9
Id.	3.7	5.5	+ 1.8
Id.	3.3	6.	+ 2.7
Id.	1.9	3.6	+ 1.8
Id.	4.1	5.9	+ 1.8
Id.	2.6	4.3	+ 1.7
Id.	4.2	5.6	+ 1.4
Media . . .	3.0	5.2	+ 2.2

I numeri non rappresentano la quantità esatta del sangue, perchè uscendo il siero ne risulta un ispessimento del sangue, bisogna dunque calcolare un po' di sangue di più.

Alcune di queste zanzare, due volte narcotizzate, riprendevano nel termostato e lo sviluppo dei parassiti non fu disturbato.

Il sangue degli ammalati i quali furono punti era sempre pieno di gameti.

L'infezione delle zanzare aveva sempre luogo durante le mie ore di consultazione; si faceva dunque con grande facilità e semplicità. Le zanzare pungono anche di giorno se sono affamate. Quasi sempre feci pungere 25 zanzare alla volta. Le persone adulte feci pungere sul braccio, i bambini sul ventre o sulle natiche subito dopo l'attacco di febbre, al massimo 20 ore dopo.

Il mio primo esperimento aveva per scopo di costatare se e quanto ci voleva a 25° C. (temperatura frequente nell'estate) per maturare gli sporozoiti.

Esperimento I. — 25 anofele furono infettate e tenute nel termostato a 25° C. Dopo 4 giorni ne visitai ogni giorno una per vedere lo sviluppo. Dopo 12 giorni le capsule erano mature e si ruppero a leggera pressione. Al 14° giorno le glandole salivari erano piene di sporozoditi. Tutte le zanzare erano infettate, meno una che visitai il sesto giorno. Non n'era morta nessuna. Le capsule variavano dalle 3 alle 20.

Questo esperimento dimostra che mediante una temperatura di 25° C. in Olanda si trovano gli sporozoiti nelle glandole salivari 14 giorni dopo l'infezione delle zanzare.

Esperimento II. — 24 anofele infettate furono messe per 2 giorni nel termostato. Poi furono tenute per 24 ore all'aria aperta (era il 12 settembre massima di temp. 15° min. 12° C., poi furono rimesse nel termostato fino alla fine dell'esperimento. Le capsule erano sviluppate come quelle dell'esperimento I ma variavano di grandezza che era press'a poco quella del 12° giorno dell'esperimento I. Le glandole salivari non erano infette. Il numero delle capsnle variava dalle 2 alle 12. L'ammalato però aveva meno gameti nel sangue che l'ammalato del primo esperimento.

Se le anofele sono infettate una temperatura di 10–15° nel terzo giorno non impedisce lo sviluppo dei parasiti.

Esperimento III. — Lo stesso ammalato dell'esperimento II fu punto due giorni dopo senza che avesse preso il chinino. Il numero dei grameti era invariato.

III *a*. — 12 anofele infettate furono messe per 2 giorni nel termostato a 25°, poi esposte all'aria aperta che variava da 22 a 10° (6-12 settembre).

III *b*. — 13 anofele infettate furono tenute all'aria aperta (4-16 settembre).

Temperatura durante l'esperimento: II 4-16 settembre

Massima: 14, 15, 15, 15, 16, 20, 22, 22, 22, 16, 16, 16, 14, 16.

Minima: 10, 10, 10, 10, 10, 14, 18, 16, 13, 10, 13, 13, 9.

Dopo 12 giorni dell'esperimento III *a* 10 anofele erano infettate, due erano morte. Le capsule erano grandi, ma non mature. Furono trovate dalle 2-15 capsule.

Al 12° giorno soltanto una delle altre 13 fu trovata infetta con due capsule, nessuna era morta.

Risultato: una temperatura esterna che varia nei primi giorni da 14-10° più tardi da 10-22° non impedisce completamente lo sviluppo dei parasiti.

Esperimento V. — 22 anofele furono infettate e tenute 18 giorni ad una temperatura di 18°. Dal 12° fino al 18° giorno visitai giornalmente una zanzara.

Le rimanenti furono uccise il 12° giorno. Il 18° giorno ho trovato delle capsule mature, tutte erano infettate meno una. Il numero delle capsule variava dalle 4-41. Nessuna zanzara morì. I parassiti si sviluppano a 18° (temperat. min. d'agosto) benchè ci mettano più tempo che a 25°.

Esperimento VI. — Per un altro scopo tenni 38 anofele infettate a 30°, 8 ne morivano. La digestione del sangue fu più rapida. Dopo 10 giorni trovai le capsule mature nelle glandole salivari. Le capsule erano più grandi e mi pareva che contenessero più sporozoiti. Il numero delle capsule variava dalle 4-14. L'ammalato punto aveva però moltissimi gameti nel sangue.

Lo sviluppo dei parassiti è dunque più rapido a 30° che a 25°.

Esperimento VII. — L'ammalato del secondo e terzo esperimento fu punto da 16 anofele, dopo essere stato curato per tre giorni con 1 gr. di solf. di chinino. Queste zanzare furono tenute per 12 giorni ad una temperatura di 25°. Nessuna era infetta. La terapia del chinino come è applicata qui in Olanda, distrugge probabilmente non soltanto le forme asessuali ma anche i gameti e impedisce certamente il loro sviluppo nelle zanzare (si parla di gameti terzanarii).

Questo esperimento era interessante perchè i dottori Gualdi e Martirano (1) hanno provato, che le forme semilunari di ammalati chinizzati bene si possono sviluppare nello stomaco delle zanzare. La questione è di somma importanza per la profilassi.

Esperimento VIII. — L'ammalato fu punto da 10 anofele il giorno che non ebbe febbri, poi gli fu dato 4 ore prima del prossimo attacco di febbre 1 gr. di solf. di chinino in soluzione e fu punto sei ore dopo da 9 anofele. Furono conservate per 12 giorni nel termostato ad una temperatura di 25°.

Delle anofele che avevano punto prima dell'applicazione del chinino 8 furono trovate infette con capsule ben sviluppate. La seconda serie fu sterile.

Una sola dose di solf. di chinino impedisce completamente lo sviluppo dei gameti.

Esperimento IX. — 26 anofele furono infettate e tenute per 12 giorni ad una temperatura di 15° C.

Nessuna fu trovata infetta.

Da tutti questi esperimenti risulta che l'Olanda l'estate ha temperature che permettono lo sviluppo dei gameti della terzana lieve.

Come sopra accennai sapevo che in Olanda c'era la piaga delle zanzare, bisognava constatare adesso se c'erano molte anofele.

Ho trovato che qui il 50 % di tutte le zanzare nelle case erano *anopheles claviger*.

Van der Wulp nella sua monografia *Diptera Neerlandica* dice che si trovano 3 specie di anofele nell'Olanda:

1. *Anopheles maculipennis*, molto.
2. *Anopheles bifurcatus*, rarissimamente.
3. *Anopheles nigripes*, rarissimamente.

---

(1) Questi *Annali* Vol. X, 1900.

Le due ultime specie non le ho mai trovate, neanche viste fra i molti esemplari che m' hanno mandato da tutte le parti. L'*anopheles macul.* è molto diffusa; ne ho avuto da molte città. Il *culex annulatus* è la prima specie che apparisce nella primavera. Poi seguono le altre specie di *culex* e l'*anopheles mac.*

Nel marzo ho trovato delle larve d'anofele già bene sviluppate e molte più anofele direi nelle case che nell'inverno. Nelle camere si trovano raramente; molto più nelle stalle umide e calde, dove pare che svernino. La prima generazione deve venire al principio di marzo. Nell'inverno non si trovano nè larve nè ninfe nell'acqua a causa del ghiaccio.

Alla fine d'ottobre il numero delle larve e ninfe era limitatissimo nelle acque che d'estate ne erano piene. Il numero maggiore di larve si trova nel luglio e nell'agosto.

Bisogna risolvere ancora un'altra questione. È possibile che d'inverno la temperatura alta nelle camere prodotta dalle stufe sia capace di fare sviluppare i parassiti nelle anofele? Secondo la mia esperienza no.

In dicembre e gennaio non ho mai visto nè febbri recidive. nè infezioni nuove. Col riscaldamento si produce una temperatura abbastanza alta, ma non costante. Se la temperatura di fuori è di — 0. 5° nelle camere da letto non si ottiene più di + 10° C. I venti del Nord e dell'Est sono così forti, che i muri di legno delle nostre case proteggono male.

È un fatto conosciuto in Olanda che alcune anofele ibernano nelle case e se si riscalda fortemente escono dal loro riparo per pungere e nascondersi poi nuovamente.

Ogni casa contiene un certo numero d'anofele, ma neanche d'estate ne ho trovate infette le glandole salivari. Credo di poter certamente negare che le anofele ibernanti producano le prime febbri (1). Queste invece sono prodotte da generazioni nuove, che si infettano colle recidive.

Nel grande numero di anofele visitato da me non ho trovato infetto che 0. 5 °/₀, ma non ho fatto le ricerche sistematicamente.

Nel prossimo anno mi propongo di estendere e completare le mie ricerche.

---

(1) Le ricerche fatte nell'Istituto d'Igiene di Roma dal dott. Martirano nel 1901 hanno concluso per questo modo di vedere; ma altre ricerche sono necessarie.

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA

Primi tentativi di ricerca di una emolisina nella malaria

per A. CELLI, A. CARDUCCI, O. CASAGRANDI.

È noto fin dai tempi antichi che la malaria rende estremamente anemico chi ne è colpito, e che talora bastano pochi accessi di febbre per rendere quasi un'ombra di sè stessi gl'individui più floridi. Kelsch (1) per primo col metodo Malassez determinò la diminuzione di globuli rossi, che si verifica in questa infezione, ed il fenomeno fu in seguito meglio studiato dal Rossoni (2), e dal Dionisi (3), cosicchè è oramai dimostrato che in tutte le varie forme dell'infezione palustre nel periodo febbrile si ha una alterazione del numero dei globuli rossi e della quantità d'emoglobina del paziente.

Allorchè si scoprì il parassita della malaria e se ne riconobbe il ciclo di vita dentro il globulo rosso, parve chiara la causa di questa alterazione del sangue del malarico: si disse infatti che ogni parassita sviluppandosi deve distruggere l'emazia che l'ospita; però se da un lato pensiamo a quei casi nei quali, pur non trovandosi del sangue circolante che scarsissime forme parassitarie, si ha ad ogni accesso di febbre una diminuzione di globuli rossi, perfino di un milione, e se d'altra parte ricordiamo che la diminuzione dei globuli rossi si verifica anche nelle malattie prodotte da tripanosomi che vivono liberi nel plasma sanguigno, sorge spontaneo il dubbio che il semplice sviluppo endoglobulare del parassita non basti a spiegarci così enorme distruzione. Ci è venuta perciò l'idea che l'alterazione sia

(1) Archives de Physiologie, 1875, 1876.

(2) *Studi clinici sulla emoglobinuria*, Roma 1888.

(3) *Variazioni numeriche dei globuli rossi e dei globuli bianchi in rapporto col parassita della malaria*. Tesi di laurea. — *Sulle variazioni degli elementi figurati del sangue nelle febbri malariche*. Policl. Vol. VIII, 1901).

dovuta alla presenza di qualche sostanza dissolvente il globulo rosso nel sangue del malarico, ossia ad una di quelle sostanze che oggi si chiamano emolitiche. In appoggio di questa nostra ipotesi ricordiamo anche altri fatti cioè: 1° nella terzana primaverile appena il parassita giovanissimo penetra nel globulo, questo si scolora rapidamente, e ciò avanti che sia iniziata la produzione del pigmento; 2° nelle febbri estivo-autunnali qualche parassita raggrinza il globulo appena vi è penetrato e dà luogo ai così detti corpuscoli ottonati, fatti questi che fanno sorgere subito l'idea che il parassita produca un veleno per il globulo.

Ci siamo accinti perciò a ricercare se c'è un'emolisina e con tanto più interesse, perchè mancandoci il mezzo di poter determinare quando l'infezione malarica è veramente spenta, abbiamo sperato di trovare nella presenza o nell'assenza di questa sostanza la desiderata soluzione dell'interessantissimo problema diagnostico della malaria latente. I criteri che ci hanno guidato in questa ricerca sono stati tre e cioè:

a) Il comportamento dei globuli rossi e dell'emoglobina nel periodo d'incubazione, di febbre e di convalescenza dell'infezione.

b) L'inoculazione di siero e di sangue malarico nell'uomo sano e negli animali.

c) L'azione in vitro del siero malarico sui corpuscoli rossi dell'uomo e di altri animali.

I Parte.

Comportamento dei globuli rossi e dell'emoglobina nel periodo di incubazione, nel periodo febbrile e nel periodo di convalescenza dell'infezione malarica.

Abbiamo pensato che, nel dubbio dell'esistenza di una emolisina nella malaria come causa di alterazione dei globuli rossi e dell'emoglobina, studiando accuratamente il comportamento di questa e di quelli in ogni periodo dell'infezione, ma specialmente in quello di incubazione e nella convalescenza, ossia quando in circolo non esistono più parassiti, forse avremmo potuto trovare argomenti in favore o contro l'esistenza dell'emolisina.

Lo studio nel periodo febbrile e nella convalescenza era stato già fatto da altri; noi lo abbiamo ripetuto, cercando per ciò che riguarda l'emoglobina di ottenere risultati più sicuri servendoci dello spettro-

fotometro di Krüse; inoltre abbiamo per i primi studiato sotto questo punto di vista il periodo d'incubazione.

I casi da noi studiati in tutti e tre i periodi sono stati tre e cioè uno di *quartana*, uno di *terzana primaverile* ed uno di *terzana maligna*: i risultati ottenuti per ciò che riguarda il periodo febbrile e di convalescenza li abbiamo controllati con lo studio di numerosi casi di infezione malarica.

Abbiamo cercato di controbilanciare per il periodo di incubazione la scarsezza dei casi: *a*) non tenendo conto di oscillazioni di uno o due giorni ma d'oscillazioni graduali durate 5-6 giorni; *b*) ripetendo, quando i risultati differivano da quelli del giorno precedente, l'esperimento e possibilmente nelle stesse ore ad uguale distanza dai pasti; *c*) appoggiando, quando fosse possibile, il risultato delle conte dei globuli con il dosaggio dell'emoglobina; *d*) infine di ogni individuo non contentandoci di giudicare la variazione dell'emoglobina riportandola alla media normale di 13,77 °/₀, e dei globuli rossi riportandoli alla media di 5,000,000, ma per ognuno abbiamo stabilito, esperimentando per 5-6 giorni prima di fare l'inoculazione, le medie relative.

I. QUARTANA.

Globuli rossi:

1. Nel periodo d'incubazione, subito dopo l'inoculazione del sangue, si ha un aumento di corpuscoli, che crescendo gradualmente raggiunge al 4° giorno circa la cifra di 8,000,000, poi incomincia una graduale diminuzione ed al momento dello scoppio della febbre in 30ª giornata la cifra è circa mezzo milione sotto il normale.

2. Nel periodo febbrile dopo il primo accesso si ha una diminuzione di circa mezzo milione, diminuzione si ha anche al secondo attacco ma meno accentuata che al primo.

3. Cessata la febbre si arresta la diminuzione, la riparazione incomincia subito ed in circa 10 giorni la cifra torna al normale.

Emoglobina:

1. Nel periodo d'incubazione, subito dopo l'inoculazione, l'emoglobina incomincia gradualmente a crescere fino a raggiungere in 9ª giornata il 20 °/₀, si mantiene salvo oscillazioni lievi così alta fino al 16° giorno, poi incomincia gradualmente a diminuire, ma al momento dell'inizio dell'accesso ancora è un po' al di sopra del normale.

2. Scoppiata la febbre la diminuzione è accentuata, ma più al secondo che al primo accesso.

3. Cessata la febbre la riparazione si inizia subito e si fa rapidamente come per i globuli rossi.

II. Terzana primaverile.

Globuli rossi:

1. Nel periodo d'incubazione, subito dopo l'inoculazione, si ha una graduale diminuzione di globuli rossi fino al 5° giorno, poi si arresta, ed il numero rimane così stazionario fino allo scoppio della febbre che succede in 16ª giornata.

2. Nel periodo febbrile il giorno seguente al primo accesso si ha una diminuzione di quasi un milione di globuli, diminuzione ma meno forte si ha al secondo accesso.

3. Troncata l'infezione il numero dei globuli rossi va lentamente crescendo fino a raggiungere, circa 15 giorni dopo la caduta della febbre, la cifra normale.

Emoglobina:

1. Subito dopo l'inoculazione incomincia a diminuire e si mantiene così fino al 9° giorno, quando incomincia gradualmente a salire sopra il normale, ma l'ascesa dura solo tre giorni, e tosto ricomincia la diminuzione ed allo scoppio della febbre è sotto il normale.

2. Dopo il primo accesso febbrile l'emoglobina diminuisce notevolmente, meno marcata è la diminuzione al secondo accesso.

3. Troncata l'infezione l'emoglobina diminuisce per 5-6 giorni ancora poi risale, ma molto lentamente, al normale.

III. Terzana maligna.

Globuli rossi:

1. Nel periodo d'incubazione e precisamente subito dopo l'inoculazione i globuli cominciano a diminuire e la diminuzione seguita fino al 5° giorno, poi cominciano a risalire, ed al momento dell'accesso in 10ª giornata raggiungono, di nuovo, la cifra normale.

2. Nel periodo febbrile la diminuzione si ha, ma è poco marcata.

3. Troncata la febbre, la diminuzione persiste, anzi va sempre più accentuandosi tanto da giungere a dare in 8ª giornata di apiressia la cifra di circa 850,000 (media 4,250,000), poi la cifra comincia lentamente a risalire e dopo circa un mese, ancora non raggiunge la normale.

Emoglobina:

Il comportamento di questa, in tutti e tre i periodi, è conforme a quello dei globuli rossi.

Comparando ora i risultati ottenuti, vediamo che da essi si possono trarre alcune importanti conclusioni. Ed anzitutto nel periodo d'incubazione, in tutte e tre le forme, si ha una variazione del numero dei globuli rossi e della quantità d'emoglobina. Si potrebbe obbiettare che recentemente sono state pubblicate delle ricerche sulle variazioni, che anche in individui normali i globuli rossi e l'emoglobina possono presentare: ma anzitutto queste variazioni non le

abbiamo riscontrate nel periodo di osservazioni fatte per stabilire la media di ogni individuo, e poi le nostre furono talmente accentuate da non essere paragonabili alle variazioni normali indicate dagli autori. Provato dunque che si tratta di variazioni non accidentali, ma dipendenti dall'infezione, è necessario, per spiegarle, pensare ad una sostanza che l'infezione stessa produca, non potendosi in tal caso pensare allo sviluppo del parassita nel globulo come causa di distruzione, perchè nel sangue in tal periodo mai abbiamo riscontrato alcun parassita. È vero che ci si può obbiettare che i parassiti, essendo la malattia in incubazione, devono essere annidati e svilupparsi in qualche organo, ma in tal caso anche se l'organo è emopoietico, è sempre notevole l'enorme variazione da noi constatata.

Il periodo febbrile e quello della convalescenza non ci forniscono alcuna prova in favore dell'ipotesi emolisinica, nella quartana e nella terzana; non così per la terzana maligna. Nella convalescenza di questa infezione, cessata la febbre, scomparsi dal sangue i parassiti, la diminuzione dei globuli rossi e dell'emoglobina persiste anche quando non si manifesta, come nel caso nostro, una recidiva della febbre.

Ora questo fenomeno, constatato prima di noi pei globuli rossi anche dal Dionisi, può essere agevolmente spiegato se si ammette che, scomparso il parassita dal sangue circolante, vi rimanga una sostanza emolitica che seguiti ad agire, e la cui azione possa durare parecchi giorni dopo la caduta della febbre, e anche quando si prepara la guarigione definitiva, vale a dire quando neppure entro gli organi devono svilupparsi dei parassiti.

E questo è, secondo noi, il più importante fatto che abbiamo trovato in appoggio della ipotesi emolisinica.

Esso ha riscontro anche nell' esperienza clinica, giacchè molte volte dei robusti contadini portati all'ospedale dopo 2-3 attacchi di febbre e con aspetto ancora florido si vedono cessare di febbricitare anche il giorno stesso dell'entrata nell'ospedale, ma nei giorni successivi, benchè ben nutriti, divengono sempre più anemici. E forse in questa duratura azione di una emolisina può avere la sua ragione la *cachessia malarica*, che può prodursi solo con qualche mese di febbre mal curata.

II Parte.

Inoculazione di siero e di sangue malarico nell'uomo sano e negli animali.

Abbiamo cercato di vedere se con questa inoculazione i globuli rossi e l'emoglobina dell'uomo o dell'animale inoculato variassero (1).

Il metodo da noi adoperato è stato il seguente:

Determinammo prima la media dell'emoglobina e dei globuli rossi dell'uomo e dell'animale scelto, poi facemmo l'inoculazione sottocutanea, proseguimmo quindi la conta dei globuli rossi ed il dosaggio dell'emoglobina fino ad un mese dopo l'esperimento, ripetendo ogni giorno la ricerca. Quasi ogni esperimento di inoculazione fu ripetuto tre e perfino quattro volte.

Riunendo tutte le esperienze praticate sulle capre, siamo arrivati alle seguenti conclusioni:

a). Inoculando ad una capra sana piccola quantità (40-60 cmc.) di *sangue umano defibrinato normale*, si ha un lieve aumento di emoglobina e di globuli rossi; inoculando invece forti quantità (150-300 cmc.) si ha marcata diminuzione e di globuli rossi e di emoglobina; dopo circa 20 giorni dall'inezione, l'equilibrio si ristabilisce.

b) Inoculando ad una capra sana piccola quantità di *sangue umano malarico defibrinato* preso all'inizio dell'accesso o qualche ora prima o qualche ora dopo, si ha un lieve aumento di emoglobina e di corpuscoli rossi; inoculando invece forti quantità (200-600 cmc.) si ha una diminuzione marcatissima di emoglobina, mentre i globuli rossi si mantengono quasi al normale. Persistendo nell'inoculazione, sono diminuiti anche i corpuscoli rossi, e la capra è caduta malata ed è morta; la qual cosa ci dimostra che con queste inoculazioni non si ottiene alcuna immunizzazione progressiva.

Paragonando dunque i risultati ottenuti coll'inoculazione del sangue normale e con quello del malarico, vediamo che le piccole quantità agiscono allo stesso modo, le grandi invece un po' diversamente, giacchè il sangue malarico avrebbe portata una più forte diminuzione di emoglobina.

Pensando che sotto l'azione di queste inoculazioni, l'organismo della capra avrebbe potuto produrre delle sostanze di azione contraria all'inoculato, cioè (se queste diciamo *emolisine*) delle *antiemolisine*, salassammo la capra, e col siero inoculammo un uomo normale, e

---

(1) Questo studio, intrapreso già dal prof. Celli e dal dott. Panichi (Celli, *Sulla immunità dall'infezione malarica*, Annali d'Igiene sperimentale, fascicolo IV, 1900), fu da noi continuato ed ampliato. Prendiamo anzi questa occasione per ringraziare il dott. Panichi, che ci fu di prezioso ausilio in questo gruppo di esperimenti.

vedemmo che dopo l'inoculazione si aveva un aumento di emoglobina, mentre i corpuscoli rossi rimanevano normali.

Volemmo anche vedere se queste presunte sostanze sviluppatesi nella capra per azione dell'inoculazione, avessero qualche azione nella profilassi e nella cura dell'infezione; a tale scopo inoculammo col siero della capra trattata individui con febbre malarica.

1° In un caso di infezione estiva recidiva con febbre alta (40,5) inoculammo una volta 15, una volta 20 ed un'altra volta 25 cm³ di siero con l'intervallo di 12 ore tra una iniezione e l'altra, l'infezione si spense, e l'infermo lasciò l'ospedale guarito senza aver preso chinino; in seguito però ritornò all'ospedale con recidiva.

2° In un caso di terzana primaverile la febbre dopo l'inoculazione di 20 cm³ fu più lieve, ma per spegnerla si dovè ricorrere al chinino.

3° In un caso di infezione malarica estiva recidiva malgrado ripetute inoculazioni (15-20-25-30 cm³) di siero l'infezione proseguì senza nemmeno attenuarsi; quindi si dovè ricorrere al chinino, ma neppure questo rimedio giovò perchè l'infermo anche con l'uso di esso aveva sempre febbre e fummo costretti per farlo guarire ad inviarlo in sito di montagna.

Per ciò che riguarda la profilassi siamo stati poco fortunati perchè non abbiamo potuto portare a fine alcun esperimento. Gl'individui si offrivano volentieri per la prova, ma essendo l'inoculazione di siero di capra dolorosissima, a mezzo esperimento si rifiutavano, e d'altra parte era necessario che le inoculazioni durassero almeno una quindicina di giorni per poter ottenere la sperata immunizzazione.

Riunendo ora i risultati ottenuti inoculando direttamente nell'uomo sano il sièro malarico, siamo arrivati alle seguenti conclusioni:

1° Inoculando ad un uomo sano piccola quantità (20-30 cm³) di siero umano normale non si ha variazione nè di globuli rossi nè di emoglobina, inoculando invece forti quantità (120-300 cm³) si è ottenuta una notevole ma poco duratura diminuzione di globuli rossi ed una più marcata diminuzione di emoglobina; dopo circa dieci giorni dall'inoculazione l'individuo era tornato al normale.

2° Inoculando ad un uomo sano piccola quantità (50-100 cm³) di siero umano malarico estivo presso all'inizio dell'accesso o poco prima o poco dopo si è ottenuto un lieve aumento di emoglobina e di globuli rossi; inoculando forti quantità (150-300 cm³) si è ottenuto un marcato aumento di emoglobina ed un più accentuato aumento dei globuli rossi.

Appare chiaro da queste conclusioni che *il siero malarico a differenza del normale ha avuto in questo caso la proprietà di eccitare gli organi emopoietici.*

Abbiamo perciò voluto vedere se tal fatto avesse alcuna influenza

sullo sviluppo dell'infezione, e siccome l'aumento era persistente abbiamo inoculato all'individuo una siringa di Pravaz di sangue tolto ad un malarico estivo ricco di parassiti in circolo.

Abbiamo seguito l'individuo e fino al momento che scriviamo la presente memoria, che è circa un anno dall'inoculazione, non ha avuto febbre. Abbiamo però saputo dopo l'esperimento che il paziente avanti la nostra inoculazione aveva subito un attacco di malaria sperimentale che era stato con molta difficoltà vinto col chinino.

Noi non vogliamo nè possiamo trarre da questi risultati alcuna conclusione generale, e lo stesso diciamo per ciò che riguarda la profilassi e la cura col siero della capra trattata, solo abbiamo voluto accennare a questi primi nostri tentativi di sieroterapia perchè ci proponiamo di riprendere l'argomento ed approfondirlo quanto giustamente merita.

III Parte.

Azione in vitro del siero malarico sui corpuscoli rossi dell'uomo e di altri animali.

Dopo i risultati ottenuti nei precedenti esperimenti sempre più convinti della necessità di ricercare una *lisina* malarica, abbiamo cercato di metterla in evidenza sperimentando *in vitro.*

Riguardo alla tecnica da noi adoperata essa fu la seguente: abbiamo cioè fatto agire sui corpuscoli rossi provenienti da sangue defibrinato quantità crescenti del siero da studiare o puro, ovvero diluito in proporzioni varie con cloruro sodico 0,85 °/₀ e quantità crescenti del siero su quantità costante di emulsione di sangue defibrinato al 5 °/₀ di cloruro sodico 0,85 °/₀. Il miscuglio l'abbiamo tenuto alla stufa a 37° per 5 ore, dopo delle quali abbiamo dato il giudizio. E per ulteriore controllo abbiamo tenuto lo stesso sangue per altre 12 ore nella stufa a 37°. Il risultato l'abbiamo constatato ad occhio nudo ed in qualche caso anche mercè l'esame microscopico del deposito delle provette.

Studiammo anzitutto l'azione del siero di uomo sano sui corpuscoli rossi dello stesso uomo e su quelli di un altro uomo, e vedemmo che questo siero non ha alcuna azione emolitica sui suddetti corpuscoli lavati o non lavati.

Cercammo poi se il siero di uomo affetto da alcune malattie (sei casi di anemia, uno di tifo) possedesse azione emolitica sui corpuscoli rossi di uomo normale, ma anche in tal caso il risultato fu negativo.

Persuasi così che tanto il siero di uomo normale, quanto il siero degli infermi per le malattie suddette non possedesse proprietà emolitiche, almeno ne' casi da noi presi in considerazione, passammo allo studio del siero malarico, e trovammo che il siero di uomo affetto da terzana lieve e da terzana maligna prima dell'accesso, durante il brivido, durante l'accesso, nel sudore, dopo l'accesso non ha mai evidente azione emolitica sui corpuscoli rossi dell'uomo sano, anche se viene alcalinizzato con le volute dosi di potassa normale diluita.

Atteso questo risultato negativo circa la presenza di una emolisina nel siero di uomo malarico, abbiamo cercato di mettere in evidenza questa eventuale emolisina con altri mezzi.

Abbiamo preso il siero di cavallo, vacca, bue, vitello, capra, maiale, cane, coniglio, cavia, oca, piccione, l'abbiamo riscaldato per 30' a 55°, poi l'abbiamo mescolato col siero malarico nella speranza che uno dei sieri de' suddetti animali potesse completare il siero malarico. Abbiamo fatto agire il miscuglio sui globuli rossi di uomo normale, ma anche così il risultato fu negativo.

Dirigemmo quindi le nostre ricerche a studiare se i sieri di malarici possedessero azione emolitica sui corpuscoli rossi appartenenti ad altri animali. Abbiamo così trovato che il siero d'uomo affetto da terzana primaverile non ha azione emolitica sui corpuscoli rossi d'oca, piccione, cavia, coniglio, cane, pecora, vitello, bue, vacca, cavallo, e che il siero di uomo affetto da terzana maligna in un caso solo ha emolizzato i corpuscoli rossi del cane, ed in un caso quelli della pecora.

Essendo riuscite infruttuose tutte queste ricerche, pensammo che l'emolisina pur esistendo nel siero malarico non si poteva mettere in evidenza, perchè essendo accaduta l'emolisi nell'organismo del malarico, il siero ottenuto dal salasso fosse privo d'alexina. E pensammo ciò ricordando l'asserzione di Bordet, che quando *in vitro* succede l'emolisi l'alexina scomparisce dal liquido.

Cercammo perciò di restituire al siero malarico l'alexina mescolandolo con siero alexico, cioè con siero di uomo normale, ed il miscuglio lo facemmo agire sui corpuscoli rossi dell'uomo sano, ma il risultato fu costantemente negativo.

Venendo così meno ogni mezzo di constatazione diretto dell'emolisina *in vitro*, ricorremmo ad una via indiretta. Ricordando che Ehrlich e Morgenroth hanno dimostrato che quando in un miscuglio si ha emolisi la sensibilizzatrice è fissata dai corpuscoli rossi e fatta scomparire dal liquido, volemmo vedere se, essendo accaduta

l'emolisi nell'organismo umano per effetto dell'infezione malarica, i corpuscoli rossi ottenuti defibrinando il sangue del malato, avessero acquistato qualche proprietà nuova rispetto ai corpuscoli rossi dell'uomo normale. A tale scopo scegliemmo dalla tabella delle emolisine fisiologiche alcuni animali che possiedono nel sangue emolisine fisiologiche rispetto ai corpuscoli rossi dell'uomo sano ed altri animali il cui siero non ha sui medesimi alcuna azione. Facemmo agire il siero di tutti i suddetti animali sui corpuscoli rossi di un uomo sano e su quelli di un malarico, e vedemmo che il siero di cane, pecora, vitello che emolizza i corpuscoli rossi dell'uomo sano emolizza egualmente quelli del malarico, e che il siero di cavallo e maiale, che non ha alcuna azione sui corpuscoli rossi dell'uomo sano, non agisce neppure su quelli del malarico. Dal che concludemmo che *i corpuscoli rossi dell'uomo malarico non sono, per quanto risulta dai nostri esperimenti, nè più resistenti nè più labili de' normali.*

Volemmo anche vedere se l'emolisina si eliminasse per l'urina, e se la rapida eliminazione di essa potesse darci ragione delle difficoltà a metterla in evidenza nel sangue.

Però, sebbene avessimo ripetuto più volte l'esperimento, dal punto di vista emolitico non trovammo alcuna differenza tra l'urina normale e quella del malarico.

In ultimo volemmo vedere se il sangue malarico passando attraverso l'organismo di altri animali conferisse al siero di essi proprietà emolitiche speciali. A tale uopo inoculammo ripetutamente per due mesi il cane, l'oca, il piccione, il coniglio, la cavia e la capra con sangue d'uomo malarico, ma non riuscimmo in alcun modo a scoprire nel loro siero nè emolisine speciali rispetto ai corpuscoli rossi dell'uomo, nè sensibilizzatrici che si adattassero all'a lexina del malarico.

In base a tutti questi risultati negativi, avendo sempre la convinzione dell'esistenza dell'emolisina malarica, ritenemmo che la difficoltà nella dimostrazione di essa potesse dipendere o dai nostri metodi di ricerca poco sensibili, ovvero dalla produzione di scarsa quantità di emolisina nelle infezioni ordinarie.

Per la dimostrazione sicura sarebbe stato necessario un caso in cui l'emolisi fosse abbondante, e fu allora che pensammo all'*emoglobinuria da malaria.*

Nelle febbri ordinarie di malaria forse l'emolisina esiste, però essa non è tale da produrre alcuna traccia di emoglobinuria: la distruzione dei globuli si constata solo con metodi molto perfezionati, e siccome per la dimostrazione dell'emolisina noi non abbiamo

metodi egualmente perfezionati, così essa sfugge alla nostra osservazione: nell'emoglobinuria invece la distruzione dei globuli rossi è così marcata da produrre un effetto constatabile ad occhio nudo, e per conseguenza l'emolisina deve essere talmente abbondante, che forse si potrà mettere in evidenza anche con i nostri mezzi grossolani.

Tale ragionamento ci indusse a fare oggetto delle nostre ricerche il siero di emoglobinurici da malaria.

Però fino ad ora abbiamo potuto esperimentare sul siero di un solo emoglobinurico. Il paziente aveva sofferto per lungo tempo febbri malariche ed era divenuto cachettico, gli fu perciò amministrato qualche cucchiaio di mistura del Baccelli, ma tosto la cura si dovè interrompere per un accesso d'emoglobinuria così violento, che condusse in due giorni l'infermo alla morte.

L'autopsia rivelò i segni della malaria pregressa. Orbene, anche le prove del siero di questo paziente diedero risultato assolutamente negativo.

Non essendoci capitati altri casi di emoglobinuria da malaria sull'uomo, ci rivolgemmo a studiare la malaria de' bovini, non perchè sperassimo di trarre delle deduzioni di analogia, conoscendo bene quanta differenza esista fra i due parassiti che sono causa di queste due malattie, e sapendo anche bene che mentre l'emoglobinuria è la regola nella malaria dei bovini, è l'eccezione in quella dell'uomo, ma semplicemente per vedere se la distruzione dei globuli rossi nei bovini fosse prodotta da una emolisina.

Ripetemmo sulla vacca gli studi fatti sull'uomo e vedemmo:

a) Che il siero di vacca sana ed il siero di una vacca affetta da carbonchio non aveva alcuna azione emolitica sui corpuscoli rossi di vacca normale.

b) Che il siero di una vacca che aveva sofferto di emoglobinuria da tre giorni aveva azione emolitica molto netta sui corpuscoli rossi di vacca sana e tale azione potemmo metterla in evidenza nel siero di una vacca stata emoglobinurica 12 mesi prima; non però in tre vacche state emoglobinuriche 15, 25 e 28 mesi avanti l'esperimento.

Riscaldammo a 55° per 30′ il siero emolitico di vacca malarica e vedemmo che esso perdeva il suo potere emolitico, allora mescolammo questo siero contenente solamente la sensibilizzatrice col siero di uomo malarico per vedere se questo siero avesse almeno la proprietà di completare con la propria alexina quello della vacca ma anche così questo siero fu inattivo.

Avremmo desiderato di proseguire i nostri esperimenti su vacche emoglobinuriche, ma non c'è stato possibile trovarne e siccome probabilmente il nostro studio non potrà per questa ragione essere ripreso prima della prossima stagione malarica, ci contentiamo pubblicare i suddetti risultati.

Conclusioni.

Non possiamo, in base alle nostre ricerche, dare un giudizio definitivo sull'esistenza dell'emolisina malarica; se però ci facciamo a considerare i risultati da noi ottenuti nelle tre suddette serie di ricerche vediamo che ci è facile emettere un giudizio di probabilità.

Infatti la prima serie di ricerche ci ha dimostrato che per renderci conto delle variazioni dei globuli rossi e dell'emoglobina nell'incubazione e nella convalescenza dell'infezione malarica si può ricorrere all'ipotesi dell'esistenza di una sostanza emolitica nel sangue del paziente.

La seconda serie ci ha dimostrato che il siero del malarico inoculato nell'uomo sano ne fa variare di molto i globuli rossi e l'emoglobina, perciò esso deve contenere qualche sostanza speciale, che manca nell'uomo sano.

Infine la terza serie non ci ha dato certamente nell'uomo la dimostrazione diretta dell'emolisina malarica in vita, come speravamo, ci ha dato invece la dimostrazione dell'emolisina in alcune vacche emoglobinuriche. Ora, lungi dal pensare che questa seconda dimostrazione conforti senz'altro la nostra ipotesi, diciamo che se essa verrà confermata dalle ricerche che proseguiremo, ci servirà di stimolo a persistere nelle indagini sull'emolisina della malaria umana, la cui esistenza a noi sembra notevolmente confortata dai risultati delle due prime serie di ricerche, e la cui dimostrazione diretta forse vien meno fino ad ora per la poca sensibilità dei metodi di esame.

Vogliamo perciò chiudere questo breve lavoro esprimendo la speranza che nelle indagini, che proseguiremo nella prossima stagione malarica, la fortuna ci sia più favorevole, e ci avvicini perciò sempre più alla soluzione d'un problema così interessante per la cura e per la profilassi di questa epidemia, qual'è quello della diagnosi della malaria latente.

Stato palustre ed anofelico (paludismo) senza malaria

Prima memoria di **A. CELLI** e **G. GASPERINI**

(con la tavola III).

I.

Ben noti da lungo tempo ed in tutte le latitudini sono i casi di condizioni palustri (paludismo) senza malaria; ma nessuno aveva intrapreso a studiarli dal punto di vista delle nuove ricerche epidemiologiche, ciò che tentammo far noi, profittando che di simili casi v'è grande abbondanza in Toscana (1).

Il compianto prof. C. Tommasi Crudeli, combattendo quello che egli chiamava *pregiudizio palustre*, già scrisse che « in ogni regione del globo..... si trovano paludi, ristagni d'acqua, maceratoi di canape e di lino, e vaste estensioni di paese in cui le acque dolci si mescolano alle acque del mare, dove non si produce malaria »; però contro questi fatti la moderna dottrina da prima osservò che ogni stagno o padule, che favorisca lo sviluppo degli anofeli, riesce malarigeno. E mentre pareva che certe eccezioni a questa regola potessero spiegarsi con la distribuzione geografica degli anofeli, il prof. Ficalbi dal canto suo notava che quest'insetti sono in realtà così diffusi da trovarsene si può dire ovunque; ed uno di noi (Celli) consapevole che (2) « l'habitat degli anofeli si estende perfino in località salubri », aveva messo in rilievo che « la distribuzione geografica degli anofeli non può coincidere con la carta della ma-

(1) Nota preventiva « Policlinico », Sezione pratica. Roma, agosto, 1901.

(2) *Contributo allo studio sulla epidemiologia della malaria secondo le recenti vedute etiologiche*. Supplemento al Policlinico, 1900.

laria », e che « non si può più ritenere in modo troppo assoluto (Grassi) che sieno essi, sempre e senza altro, la spia della malaria ».

Confermato ciò dalle ulteriori nostre indagini e da quelle del Nuttal (1), del Sergent (2), di L. Pfeiffer (3) e del Romanin-Jacur (4) restava a sapere se in tutte le località palustri e ricche d'anofeli, comparso od importato l'uomo malarico, riusciva questo dannoso per i sani.

Le ricerche in proposito, istituite con l'inizio dell'estate decorsa, ci convinsero per tempo che nei territori da noi esplorati, ordinariamente non si avverano casi di trasmissione della malaria, ed il problema delle bonifiche da farsi col concorso del Governo, ci apparve vieppiù meritevole di attento esame dal punto di vista economico-sociale, non vedendo sempre chiaro il motivo igienico per suffragare le ingenti spese che le bonificazioni richiedono.

A parte però ogni questione economica, che non è qui il caso di discutere, i fatti epidemiologici rilevati, anzichè risultarci quali eccezioni « tutte facilmente esplicabili (Grassi) » e da riferirsi ad una località circoscritta, come ad un paesello, a porzione di città, o ad un villaggio speciale, ci sembrarono invece così importanti da persuaderci ad insistere nell'*indagare le cause per cui vaste località palustri, che presentano tutte le condizioni per essere funestate dalla malaria, o non sentono che in minima parte i danni di questo flagello, od han finito col diventarne totalmente immuni.*

II.

Descrizione dei luoghi, loro stato palustre ed anofelico.

Per gli studi che ci siamo prefissi, corrispondono a pieno delle località che distinguiamo in *zone*, delle quali la *prima* comprende i paduli di Fucecchio e di Bientina, con le limitrofe bassure di Valdinievole e dei dintorni di Lucca fino al Serchio; la *seconda*, che è costituita dalla pianura qua e là palustre posta fra i Monti Pisani ed il mare, limitata a S.-S.E. da Livorno e Collesalvetti, e ad E. da Pontedera fino ai detti monti, a N. dal Serchio; la *terza*, che sta

(1) Journal of Hygiene, vol. 1, n. 1, gennaio, 1901.
(2) Ann. de Pasteur, n. 10, 25 ottobre, 1891.
(3) Correspondenz-Blätter des allg. ärzt. Vereins von Thüringen. 1901.
(4) Questi Annali.

fra i monti di Vecchiano, Camaiore, Pietrasanta ed il mare, avendo a N. il lago di Porta col relativo emissario, ed a S. il fiume Serchio.

In ciascuna di queste tre zone, così delimitate per comodo di studio, si riscontrano le più tipiche e svariate condizioni palustri, come può desumersi dall'unita carta (Tav. III), e dalle brevi notizie che andiamo ad esporre.

Prima zona

La *prima zona*, che si distingue dalle altre per non avere diretti rapporti col mare, può paragonarsi ad un grande recipiente contornato da monti e da colli, il quale abbia due aree oblunghe di massima depressione, ove sono appunto i paduli di Fucecchio ad E., e di Bientina ad O. Questi due piani sono divisi a N. dal comune di Ponte Buggianese, dalle Spianate e dal territorio d'Altopascio; a misura poi che si va a S., si alzano i colli delle Cerbaie, che appena arrivano a superare la quota di m. 100.

Il Padule di Fucecchio, che riceve le acque di un territorio così cospicuo da esser valutato a 440 chilometri quadrati, comunica con l'Arno per mezzo dell'emissario detto Usciana, il quale però non permette, pel funzionamento delle cateratte di Ponte a Cappiano, applicatevi fino dal 1824, che le acque di detto fiume, salite in piena, rigurgitino nel padule. Questo comprende tutti i terreni che costituiscono la parte centrale e meridionale della Valdinievole, terreni per i quali si rese necessario un Consorzio, sia per mantenere e migliorare gli scoli difettosi, sia per raggiungere più renumerativo prodotto e dalle zone prative e da quelle palustri. La proprietà fondiaria che ha un'estensione di circa ettari 5500, fu dall'ing. G. Clive (1) distinta in ettari 3150 di terreni allagabili, ed in ettari 2350 di terreni esterni al perimetro di allagamento.

Fra i primi si osservano ettari 1200 di prati e pasture, con carattere leggermente palustre (quota m. 15), ed ettari 220 di terre affatto palustri (quota media non superiore a m. 14.58). I terreni che trovansi dalla quota di m. 16 in su, giunte le acque a questo stadio, presentano *difetto di scolo, formazione di acquitrino a fior di terra, e infrigidimento di suolo.*

Il padule che si riduce a S. in una stretta gola, la quale sta fra il poggio di Fucecchio ed i colli delle Cerbaie, ha qui appunto uno sbarramento, in cui l'unico sfogo è costituito dalle nominate cateratte di Ponte a Cappiano. A N., invece, dove incontra la pianura di Valdinievole, si espande e presenta la maggior superficie di colmata per la potenza oblimatrice dei torrenti che calano in testa al padule stesso, potenza tanto grande « che dall'anno 1833 in poi, la sfociatura della Pescia di Pescia ha progredito per ben 1300 metri. » (2).

---

(1) *Consorzio degli Emissari del Padule di Fucecchio.* Firenze, Tip. G. Campolmi, 1895.

(2) Ing. D. Giovanni Cuppari. *Sulla bonifica del Padule di Fucecchio, ecc.* Relazione 31 maggio 1900. Pisa, Tip. Successori Nistri.

Tranne che in questi torrenti principali, nei quali la corrente si mantiene assai rapida, in tutti i fossi traversi, negli stagni, nei pollini, alle sponde dei canali maestri e secondari, abbiamo sempre trovate ove abbondantissime, ove numerose, le larve degli anofeli.

Nelle case, nelle stalle, nelle capanne situate in padule, nelle gronde, ed anche in quelle distanti dal padule abbiamo costantemente catturato l'*Anopheles claviger*, il *pictus* ed anche il *biphurcatus*. In mezzo dunque a questi terreni palustri e nelle fosse di quelli sofferenti di scolo, come in tutti gli altri adiacenti, si trovano larve di *Anopheles*, ed anofeli perfetti straordinariamente numerosi, ovunque, come è difficile di vederne in maggior copia nel padule di Scarlino, od in altre località essenzialmente malariche.

Passando al PADULE DI BIENTINA, esso pure compreso per la bonifica di prima categoria in corso, ci troviamo dinanzi ad un territorio che da secoli si è cercato di liberare dalle inondazioni e dagli impaludamenti. Qui abbiamo un'area tributaria di ben 400 chilometri quadrati e terreni da bonificare per ettari 7155 di proprietà privata, ed ettari 1300 di proprietà demaniale. Questo padule, che ha pure figura oblunga, recinge le pendici orientali del Monte Pisano e nei periodi d'inondazione estende il suo specchio d'acqua così da sommergere, come avvenne nel dì 1° dicembre 1898, ettari 2345 di terreni in parte coltivati.

Un tempo ebbe una superficie in piena di ettari 6615, e di ettari 2863 con acque ordinarie e di ettari 1675 in magra.

Con le sue espansioni l'antico lago si estendeva talora fino alle mura di Lucca, così come Pescia fu lambita dalle acque del lago di Fucecchio. La depressione in esame situata fra l'Arno ed il Serchio ricevette le acque di colmata da ambedue questi fiumi. In seguito poi venne a stabilirsi un regime per cui il Serchio servì a sottrarre al padule la maggior copia delle acque del versante lucchese e delle pendici N. dei monti pisani; e nell'Arno si riversò il chiaro del padule istesso.

Quando poi nel 1406 i Fiorentini, soggiogando Pisa, ne trasandarono il territorio così che i corsi d'acqua restarono senza freno di sorta, gli scoli guastati, e la pianura « resa insalubre », questi danni grandemente si fecero risentire in quel dei lucchesi, che nel 1560 ebbero il permesso di scavare la fossa che prese il nome di *Serezza nuova*.

Rettificato l'Arno nel 1579 detto emissario cessò di funzionare: e nonostante altri lavori fatti dai lucchesi nel 1583 (prolungamento della fossa ed apposizione delle cateratte a Riparotti), il governo toscano dovette persuadersi della necessità di aprire un nuovo emissario fra il lago e S. Giovanni alla Vena, opera che fu compiuta nel 1760 a tutte spese della Toscana.

Tale emissario, o *Canale imperiale*, nonostante diretto da una persona competente come lo Ximenes, non riuscì a liberare il territorio dai danni delle inondazioni.

Fra i progetti che successivamente furono presentati al governo della repubblica ed al governo toscano, su relazione del prof. Maurizio Brighenti del 18 febbraio 1852, fu prescelto il progetto Manetti, che reso esecutorio con sovrano decreto 10 aprile 1852 e con altro 18 marzo dell'anno successivo, dette luogo all'esecuzione della Botte sotto l'Arno, inaugurata il 18 dicembre 1859. Nel 1863, compiuti i lavori per cui le acque del lago dovevano direttamente sboccare in mare, tali acque vi si riversarono ed il lago scom-

parve affatto. Non valutati però giustamente alcuni coefficienti, come quello essenzialissimo del costipamento del fondo palustre e l'altro di un bacino tributario inferiore al vero, la *detta bonifica non corrispose*, cosicchè le acque restano tuttodì a danneggiare una superficie di circa 73 chilometri quadrati, suolo questo del comprensorio di bonifica costituito per la massima parte da ferace terra vegetale.

Sotto il paese d'Orentano si trova la così detta « regione dei pollini » costituita da un'assai ricco strato di torba. Tale prodotto si estrae in estate ed occupa nella lavorazione un cospicuo numero d'operai.

Altro terreno torboso è situato fra le Cascine di Buti e Castelvecchio; ma qui manca l'industria della estrazione e lavorazione di detto prodotto.

Dato uno sguardo a questo padule occorrerebbe far menzione delle aree di impaludamento ed infrigidimento situate lungo le pendici settentrionali dei monti pisani ed in vicinanza di Lucca.

Ma in siffatte località, con fisonomia palustre, nulla si osserva che non sia a comune sotto ogni punto di vista col padule vero e proprio.

Infatti dappertutto si sono trovati anofeli numerosi, larve abbondantissime, con frequenza maggiore nei piccoli stagni, come sotto la stazione di Porcari, e tanto nelle fosse traverse, che nei canali maestri. Lo *stato anofelico* di questo padule e delle adiacenti aree acquitrinose può dirsi addirittura perfetto, sia perchè non ci mancano varie specie rappresentanti il gen. *Anopheles*, sia perchè sciami di *claviger* e di *pictus* invadono soprattutto le stalle e le capanne senza risparmiare le case.

In tutta questa *prima zona*, ben distinta per posizione da quelle littoranee, nonostante il pericolo ed i danni delle inondazioni, si pratica la cultura intensiva, con la quale fanno grande contrasto i terreni rimasti allo stato palustre.

Le difficoltà, e bene spesso l'impossibilità di creare un buon sistema di scoli che faccian capo ai paduli, non hanno valso ad arrestare gli industri abitanti della Valdinievole e del piano di Lucca nel proposito di usufruire della prodigiosa fertilità di queste terre, ormai rese esemplarmente produttive.

E di fatti qui è aumentato il numero dei coloni e qui si trovano molti braccianti che d'estate attendono non solo al lavoro dei campi ed alla coltivazione del granturco fino alle più basse gronde delle terre palustri; ma che invadono lo stesso alveo costantemente acquitrinoso, sia per la raccolta dei falaschi, della cannella, dei giunchi e di altri prodotti, sia per lo spaglio dei numerosi canali che altrimenti per l'ingombro delle erbe cesserebbero di essere officiosi.

Quegli stessi coloni e braccianti che d'inverno, a piè di casa, devono tenere la barca per accedere ai paesi vicini, lasciano per lo più a rimirare lo specchio d'acqua, che sale e si distende, le donne, i vecchi ed i piccoli, per andare in cerca di lavoro nelle maremme, in Sardegna, in Corsica ed in Algeria. L'abitudine di emigrare in autunno per rincasare verso l'aprile e il maggio non si riscontra solo negli abitanti delle bassure; ma è proprio anche di non pochi operai dei paesi che sorsero, come nelle Maremme, sulle alture circostanti alla pianura allagabile.

Ma nella stagione estiva, quando tutte queste terre indistintamente chiedono braccia, ne possono disporre, perchè gli emigrati ritornano ad accudire ai propri interessi, o sono attratti dal desiderio di trar profitto dell'opera loro in casa propria.

Seconda zona

In questa *seconda zona*, dobbiam notare lame, paduli e stagni, dei quali parte si approssimano alla città di Livorno, parte alla città di Pisa. I terreni tipicamente paludosi qui sono per la massima parte vicini al mare ed oltre a ciò si distinguono per esser situati in mezzo a boschi ed a grandi viali di pini, senza cultura intensiva, ed anzi, con estese praterie all'intorno ove si raccolgono i fieni ed i falaschi.

Il padule di Stagno della reale tenuta di Tombolo, è prossimo a Livorno, a N. della qual città si trovano subito terreni paludosi e facilmente allagabili. Questi si estendono poi dal casolare di Stagno verso E., lungo cioè quella serie d'emissari e di corsi d'acqua che percorrono la pianura pisana. Il padule maggiore, a S. di Pisa, è pure compreso nella tenuta di Coltano e sta fra i Palazzi a S. e le Rene a N., uniche località ove si trovino delle abitazioni riunite per un piccolo numero di impiegati e di famiglie coloniche.

Una cultura intensiva circonda le lame ed i piani tenuti a fieni; ed in più vasta scala si osservano poderi, orti, e veri giardini laddove è maggior franco per la coltivazione e specialmente lungo l'Arno.

La riva sinistra di questo fiume è fiancheggiata da un ampio lembo di terreni feracissimi che a S.O terminano alle ricordate bassure ed ai paduli delle regie tenute. Le terre con franco coltivabile da m. 0.60 in su si trovano per una striscia limitata anche lungo la destra dell'Arno, e subito dopo, verso i monti pisani si incontrano i piani tributari di Fiume Morto.

La città di Pisa quindi, lungo le rive del fiume ha una serie di poderi, orti e giardini che sono fra i più ridenti e produttivi d'Italia. Ne ha pure attorno alle sue mura, specialmente a S.E; ma a breve distanza dal perimetro urbano, specialmente a N., è circondata da terreni che abbisognano di bonifica e che non avendo dall'Arno e dal Serchio ricevuto tutto il vantaggio delle colmate, da questi fiumi han dovuto mano a mano rendere indipendente il loro regime idraulico.

La superficie oggi tributaria di Fiume Morto, si distingue in terreni di pianura, che si calcolano ad ettari 7209, ed in quelli palustri, che sommano ettari 1008.

Fra quest'ultimi sono compresi quelli situati presso S. Rossore (ett. 644) e gli altri che formano il padule d'Asciano ed Agnano (ett. 364).

La bonifica di questa pianura settentrionale pisana ha formato oggetto di studi pregevolissimi per opera dell'egregio signor ing. R. Olifredi, cui si deve il perimetro segnato nella carta (V. Tav. 3) e che abbiamo desunto dalle sue pubblicazioni (1).

Detto perimetro comprende la superficie soggetta all'acqua, cioè con franco sulle massime piene del Fiume Morto minore di m. 0.60, inclusi i terreni palustri superiormente indicati (ett. 3478).

---

(1) *Progetto di massima per la sistemazione generale del Fiume Morto.* Pisa, Tip. Nistri e C., 1892.
Progetto di massima per la bonifica generale della pianura settentrionale pisana. Pisa, Tip. Pieraccini, 1900.

In confronto di questi si trovano in detta pianura ettari 2723 con franco superiore a m. 0.60, ma traversati da canali a lenta corrente e simili sotto ogni aspetto a quelli che attraversano tante zone gravemente malariche.

I terreni di pianura, che costituiscono l'85,5 % del bacino di Fiume Morto, sono in gran parte coltivati, in larga superficie prativi, e nelle plaghe più depresse, l'una come si è visto presso Agnano, l'altra nelle vicinanze di S. Rossore, addirittura palustri. Questa pianura propriamente detta, formata dalle alluvioni dei noti fiumi Arno e Serchio, presenta terre silicee e leggere presso i due fiumi; argillose e forti nella parte mediana; sabbiose con tomboli e dune presso il mare.

Qui si determinano spesso dei rigurgiti e perfino l'impedito scolo delle terre tributarie di Fiume Morto, perchè, dominando nel litorale in parola i venti del quadrante da mezzogiorno a ponente, la foce di detto fiume è esposta ad ostruirsi e perfino a cambiare di posizione ad ogni più piccola mareggiata. E si può dire che per questo, e per le condizioni altimetriche di non poche plaghe di questa seconda zona, qui abbondano condizioni palustri marcatissime.

Tuttavia, se facciamo eccezione per gli abitanti di lungo Serchio, quelli del Pisano non sono soliti emigrare per andare in cerca di lavoro. Le macchie, le pinete, le praterie ed i paduli che sono fra Livorno e Pisa, fra Pisa ed il litorale richiamano in ogni epoca dell'anno numerosi braccianti e non pochi cacciatori e pescatori, senza dire di tutti coloro che vi abitano a permanenza, o che per diporto si recano nelle tenute reali, o lungo la spiaggia.

Terza zona

Anche in questa *terza zona*, senza dubbio per noi interessantissima, si presentano allo studio delle plaghe palustri con delle caratteristiche che non possono omettersi.

Prima fra queste plaghe è quella situata a N. N-O di Vecchiano. Chi da questo paese prenda la via di lungo monte che conduce a Quiesa incontra sulla sinistra dei terreni eminentemente palustri in cui gli abitanti dei dintorni hanno adottato il metodo di bonifica per mezzo dell'*allenzatura* o *mazzuolatura*. Tale metodo, che lo stesso Zendrini giudicò « più imperfetto » di ogni altro, atteso il ristagno delle acque che produce una pessima aria, qui si è operato in condizioni sfavorevoli. Prima di tutto i mazzuoli, per la tendenza che hanno sempre ad abbassarsi, è bisognato farli stretti, e per mantenerli, si è dovuto così spesso allargare i fossi, a spese dei quali furono ottenuti, che a Tombolaia, ad esempio, il chiarissimo ing. G. Cuppari trovò dei rapporti fra la superficie utile e la totale di quei mazzuoli intorno al 60 %, 46 %, ed anco minore del 44 %. Noi stessi abbiamo osservati dei mazzuoli ristretti come argini. D'estate si verifica un dislivello fra lo specchio d'acqua e la terra di m. 0,65, 0,90, e perfino m. 1,15 e m. 1,20. Certe culture vi trovano quindi un franco sovrabbondante, come avviene delle estesissime coltivazioni dei pomidoro, che in questa località, introdotte da poco più d'un ventennio, han raggiunto un incremento straordinario.

In qualunque punto però si osserva la mazzuolatura di questa plaga, sia pure dove gli affossamenti hanno le dimensioni più giuste, si avvera l'inconveniente del mancato scolo delle acque, le quali, tenute ferme negli innumerevoli fossi, si attende che si abbassino mercè la evaporazione.

Così avviene che l'eccessivo specchio d'acqua che trovasi fra i mazzuoli, senza alcuna comunicazione ordinata con un recipiente, qualsiasi, ed anzi *intercettato dal lago*, si smaltisca col pessimo dei sistemi, e rimanga stagnante appunto nell'estate, quando condizioni consimili ovunque, ma non qui, costituiscono un fomite d'infezione malarica.

In tale area, del resto, lo invocare il sussidio dell'evaporazione estiva può considerarsi come una necessità, perchè « il regime del pelo d'acqua nel recipiente lago è tale che mediante lo scolo naturale neppure i mazzuoli più alti potrebbero avere un franco appena appena disponibile » (Cuppari).

Dopo queste aree coltivate a mazzuoli si passa a delle *marcite*, in realtà circoscritte, ed a delle *risaie* che, come desumesi dall'annessa carta, occupano un'assai vasta superficie.

La speciale cultura del riso, che si fa in questa plaga da S-E a N-E di Viareggio, ha figurato fino dall'inchiesta governativa fatta nel 1899 sull'importanza di tale coltivazione, come giovevole alle condizioni sanitarie del luogo. Ed infatti hanno l'aspetto della più florida salute le numerose donne, le giovanette ed i fanciulli che da Vecchiano, Avane, Filettole, Castiglione Barbano e Maciuccoli vanno al lavoro nelle risaie Ottolini, Ginori, ecc. Ed in generale si riceve l'impressione di gioventù sana e robusta nell'assistere, come abbiamo fatto più volte, alla processione delle donne e dei fanciulli che nelle prime ore del mattino da Quiesa, Massarosa, Stiava, e dalle pendici dei monti prospicienti al lago, discendono alle rispettive risaie. Eppure il lavoro in mezzo all'acqua è disagevole e grave, mentre le mercedi sono scarse, insufficienti. Tuttavia questa popolazione sobria e lavoratrice se ne contenta, perchè ha dalle risaie una risorsa maggiore che dal lavoro dei campi, pel quale nè i più giovani, nè le donne sono presi a opera.

Noi abbiamo visitate le risaie di proprietà Ottolini fino dai primi di giugno, e col giorno 15 del successivo luglio si completò l'esame di questi luoghi, profittando dell'invito cortese fatto ad uno di noi dall'ing. Enrico Orlandi, capo dell'ufficio tecnico di finanza di Lucca, che ci agevolò la visita dei canali posti fra Massarosa e Viareggio. Assieme al predetto ingegnere ed a suo figlio Mario, studente in medicina, si pescarono in quel giorno innumerevoli larve di *Anopheles claviger* e *pictus*, come avevamo già fatto verso Vecchiano e Montramito, vedendo copiosi e diffusi gli anofeli come nel Vercellese malarico.

Premendoci che i colleghi di queste località ci agevolassero il compito di decidere con accurati esami di sangue intorno ad alcune notizie raccolte e meritevoli di speciale considerazione, ritornammo a Massarosa quando potevamo trovarci l'ufficiale sanitario, solito a recarsi in famiglia a Viareggio. Il 26 luglio, esplorato di nuovo il padule e le risaie, catturati numerosi anofeli, e raccolte centinaio di larve, fummo ospiti del predetto ufficiale sanitario dott. Francalanci al quale credemmo bene di esporre il piano delle nostre ricerche ed i risultati ottenuti, sicuri di poterlo interessare a coadiuvarci.

Visti i pochi anofeli che il collega teneva come per campione, e che ignorava, come possiamo dimostrare con documento inoppugnabile, si trovassero

nelle risaie, prendemmo cognizione delle sue relazioni, nelle quali sosteneva la assoluta scomparsa della malaria da quei paduli in seguito e per effetto dell'introdotta coltivazione del riso. Ascoltato ciò, non senza pensare e rammentare le tante risaie che altrove sono fomite della malaria più grave, nonchè altri fatti osservati nelle tre zone già esplorate, ci mettemmo a sua disposizione non solo per l'esame del sangue dei casi dubbi che potevano comparire autoctoni; ma eziandio per l'esame dei malarici rimpatriati dalle regioni senza dubbio infette, sperando altresì di poter compiere in questo luogo molto adatto qualcuno degli esperimenti sulla eventuale trasmissione della malaria di cui a suo tempo terremo parola.

L'egregio collega, che non secondò i nostri desideri, ci ha poi favorito con ricerche iniziate dopo le nostre visite (1) confermando quei dati di fatto su cui fino dal 14 agosto avevamo pubblicamente con una nota preventiva (2) richiamata l'attenzione sua, come quella di tutti coloro cui poteva interessare tale argomento.

Dopo la pubblicazione della nostra nota preventiva anche il Grassi s'è messo sulle nostre pedate, e confermando alcuni fatti da noi già esposti non è riuscito a darne una plausibile spiegazione (3).

Abbiamo dovuto metter le cose a posto per tranquillizzare chi voglia credere che a Massarosa si potesse apprendere più di quello che avevamo constatato le tante volte in molti altri luoghi delle zone in antecedenza esplorate, e per riaffermare che prima di noi nessuno dei medici di queste zone si era preoccupato di esplicare con indagini su vasta scala le peculiari condizioni del problema che da tempo ci occupa.

Andando oltre ci corre l'obbligo di far noto che fino dal 1896 il professor E. Ficalbi nel territorio pisano trovò sempre abbondante l'*Anopheles claviger*, e frequente anche l'*Anopheles pictus* o *biphurcatus*. Entro la città di Pisa, nello stesso laboratorio di zoologia, catturò anofeli, e nell'attiguo Orto botanico, delle larve.

L'ing. Perrone (4) fino dal 3 agosto 1900 trovò nei dintorni di Massaciuccoli abbondantissime larve di anofeli fra le erbe del Travèrsagno al Capannone.

Ne rinvenne numerose nel fosso Anguillara ed in alcuni canali di scolo fra Pisa e Collesalvetti.

Noi nel dì 27 maggio trovammo abbondanti larve nei fossi presso Stagno ed in quelli che fanno capo al padule di Stagno ed a quello Maggiore, presso i Palazzi e le Rene.

Il successivo giorno 28 si videro larve abbondantissime nel Caligi, nella Sofina e nelle fosse dei dintorni di Pisa che si scaricano nella Sofina stessa. Nei giorni successivi se ne pescarono nella tenuta di Tombolo e S. Rossore, nei fossi del padule d'Asciano, lungo la strada dei condotti, nei pressi di Sangiuliano, di Gello, e della Madonna dell'Acqua.

(1) *Nota preventiva sulla malaria nel comune di Massarosa in rapporto alle nuove ricerche.* Viareggio, Tip. O. Ciani, 1901 (data da Massarosa il 27 agosto).

(2) Loc. cit.

(3) Accademia dei Lincei. Rendiconti. Roma, 1901.

(4) *Sui costumi delle larve del gen. Anopheles in relazione con le bonifiche.* Questi Annali fasc. I, anno 1901.

Il 24 luglio si erano già raccolte larve a Migliarino e nelle fosse a Nord di Viareggio, fino alla foce del Cinquale.

Nelle acque del piano di Pietrasanta e del lago di Porta si videro ugualmente innumerevoli larve di anofeli; così da poter dire che ad ogni pescata non è possibile trovarne di più nei paduli della maremma peggiore.

La distribuzione topografica di queste zanzare va al di là delle aree palustri qui accennate e tanto si estende in queste tre zone da riuscire quasi impossibile la designazione dei luoghi, seppur ci sono, ove gli anofeli mancano.

Se ne trovano a miriadi nelle capanne dei pescatori e di coloro che per qualsiasi uso si costruiscono dei casotti, o dei ripari in padule. Chi è costretto a pernottarvi bisogna che bruci della paglia, o fumi abbondantemente per non esser coperto di punture.

Migliaia di tali insetti aerei si vedono nelle stalle, molti nelle case.

Anofeli aerei ne abbiamo visti emigrare anche a distanza con i fieni o coi falaschi dei paduli; ed è col trasporto del falasco sulle aie dei contadini che coincide una tale invasione nelle stalle e nelle case di anofeli da dare la maggiore molestia.

Le zone studiate, dunque, dal punto di vista idrografico ed agricolo e per il loro stato anofelico non differiscono da quelle ove infierisce la malaria più grave.

I paduli di Fucecchio e di Bientina, come del resto quelli di Montepulciano e di Chiusi, ben noti sotto quest'aspetto ad uno di noi fino dal 1900, si presentano come oasi palustri in mezzo alle più ubertose campagne.

Nel percorrere d'estate le zone descritte si vedono ristagnare ovunque canali di acque morte, come quelle così pestifere delle vicine maremme. Si coltivano presso il lago di Massaciuccoli e verso Montramito le più rigogliose *risaie*, come in Lombardia, e vi si fanno qua e là *macerazioni di canapa.*

Sul padule di Bientina, ad Orentano, si è visto che si scavano *torbiere;* nel padule d'Asciano, ma più ancora in quello di Vecchiano si pratica l'*allenzatura*, o *mazzuolatara*: insomma abbondano ovunque le condizioni che altrove sono concomitanti con le febbri malariche, o le fanno crescer di numero e di gravezza.

Invece qui, dappertutto, l'agricoltore conquista palmo a palmo le terre dalle acque, e vicino, sulle gronde, o addirittura in mezzo alle paludi, nelle capanne o nelle case sparse in piena campagna pone tranquillamente la sua dimora estiva ed abituale, mentre altrove nei luoghi di malaria, è costretto a temere l'estate, a rifugiarsi nelle alture, o ad accumularsi nelle grosse borgate.

È evidente infine che *in queste zone nelle quali si osserva il più tipico e svariato regime palustre, le specie del genere* Anopheles *abbondano fino a raggiungere un numero che tocca perfino lo straordinario, senza poterle al tempo stesso riguardare come spie della malaria.*

III.

Storia della malaria nelle zone descritte.

a) Epidemie pregresse. — Trovandoci in territori che sono andati soggetti a trasformazioni del sistema idrografico ove più ove meno frequenti o sostanziali, e dove si può seguire tutto quanto di meglio fu escogitato per le bonificazioni dai più autorevoli idraulici toscani, non riesce difficile, assieme alle notizie inerenti alle condizioni del suolo, trovarne di quelle che riflettono la salubrità dell'aria.

Così, cominciando dalla *prima zona*, furono dal prof. Carlo Fedeli (1) citati dei documenti ed altri da noi consultati (2), i quali inducono la convinzione che nel padule di Fucecchio dominasse la malaria, così da aver dato luogo a gravi epidemie. Nel 1549, per decreto di Cosimo I, consolidata la chiusa di Ponte a Cappiano, dal livello della quale chiusa si sa che dipendeva il regime delle acque in padule, questo divenne addirittura un lago, apportando così, secondo il parere di alcuni, col diminuire delle oscillazioni dello specchio d'acqua, una maggiore salubrità al clima della regione. Ma da un manoscritto del dott. Antonio Banti, che risale al 1824 (3), si desume che al tempo in cui le acque erano tutte rinchiuse « i popoli ne risentivano dei gravi danni, sì per l'infrigidimento di tutti i terreni adiacenti, sì ancora per le *crudeli epidemie* alle quali andavano ogni anno soggetti ». Devesi in parte ai lamenti che sorgevano insistenti se fra le prime cure di Leopoldo I vi fu quella di far demolire dalle fondamenta le calle di Ponte a Cappiano e di agevolare altresì le opere di colmazione. Dopo ciò sorse il timore che per le piene d'Arno potesse derivare il rialzamento del letto dell'Usciana, e che successivamente le acque, non avendo libero corso nel detto fiume, facessero ritornare la Valdinievole tutta « *a guisa di una pestifera maremma* ».

Altri dati attestano come ai primi del secolo passato preoccupasse il ricordo di avere assistito nella Valdinievole alle stesse conseguenze funeste della *cattiv'aria* che si notavano nelle maremme, ed è vivo il ricordo in alcuni vecchi delle *febbri terzane* e di qualche *perniciosa* che poco più di mezzo secolo fa si pigliavano nei paduli di Fucecchio e di Bientina, febbri che ci sono state descritte in modo da non poterle riferire a quelle supposte epidemie di febbre tifoide, alle quali alcuni vorrebbero ascrivere

---

(1) Comunicazione alla Società fiorentina d'Igiene. Firenze, 30 dicembre 1899.

(2) Dott. Giovanni Targioni Tozzetti. *Sopra le cause ed i rimedi dell'insalubrità dell'aria della Val di Nievole.* 1761.

(3) Manoscritti, pubblicazioni e notizie importanti abbiamo ricevute dal chiarissimo ing. dott. G. Cuppari al quale ci professiamo grati.

le *pestilentes febres* che erano solite comparire numerose ogni anno « *in fine aestatis et in autumno* ».

Del resto, a proposito della bonifica del padule di Fucecchio, son nate polemiche riguardanti l'esistenza della malaria in queste località; ma le contestazioni si sono riferite più all'epoca presente che al passato, essendovi concordia nell'ammettere che realmente in passato si verificassero in queste terre palustri epidemie da malaria. A conferma di ciò basti il notare che dai registri del dott. Catone Tempesti, il quale precedette l'amico dott. Scardigli nella condotta di Ponte a Cappiano, risulta chiaro che nel periodo dal 1860 al 1870 i casi di febbri furono colà frequentissimi (tipo terzanario e quotidiano con qualche raro caso di perniciosa).

Di dette epidemie si notano le conseguenze pure nella *seconda zona*, ed anche nella città di Pisa, la quale dai tempi gloriosi ridotta « in stato assai lacrimevole, il suolo ad essa adiacente..... palustre divenne, per cui resosi l'ambiente di cattiva condizione, le convenne mirar cresciute le sue disavventure nella scarsezza e nella perduta stabil salute dei suoi miseri cittadini ».

Sotto il dominio dei Medici « essendosi seriamente pensato a rimettere in corso le stagnanti acque quanto era possibile con lo stabilirne gli scoli opportuni, acciò il Padule, che quasi sotto le di lei mura per alcuni lati stendevasi, si allontanasse », fu pure escogitato l'espediente di piantar selve « a dir vero folte, e di considerabile estensione, dalle quali facendosi argine ai venti, che sopra tali paduli strisciavano, non arrecassero eglino alla vicina città le micidiali palustri esalazioni, onde non infestassero gli abitatori della medesima ». Dall'allontanamento dei paduli e da queste selve ritenendo i cittadini di avere ottenuto assai, credettero successivamente che fosse di danno mantenere le selve stesse presso la città, e ne fecero il taglio. Rimasta fra l'Arno e la Porta Nuova la così detta selva *Fagianaia*, e d'altra parte essendo scomparsa la paludosa pianura di *Barbaregina* e di *Camp'Alto*, si provocarono dei pareri per vedere se anche questa selva di annose quercie poteva demolirsi. Fu in tale occasione che redigendo il suo « sentimento » il dott. Giuseppe Taddei, professore di medicina teorica nell'Università (1), dopo essersi espresso favorevolmente alla remozione della selva divenuta un inutile riparo, chiese « che sempre sien tenute lontane certe cause di cattive esalazioni che possono alle volte giacere sotto le mura della Città, e che con gran fondamento può credersi aver dato in qualche tempo un forte motivo a certe putride febbri, che epidemicamente hanno infestato i di lei abitatori, come avvenne nel 1757, nel qual anno vegliò una costituzione di febbri terzane, in molti di carattere maligno, e certamente mortifere, e che inferocì sul terminare dell'estate e nel principiar dell'autunno, occupando la parte boreale della Città distintamente in quel tratto, che parallelo giace al di lei muro, e nel 1761, nell'istessa stagione, in cui il Quartier boreale verso Greco, sul confine della Città, fu assalito da febbri dell'istessa natura ».

---

(1) *Ragionamento sopra la selva contigua alla città di Pisa, detta la Fagianaia, coll'esame degli effetti che ne provengono in rapporto alla salubrità dell'aria.* In Pisa, l'anno 1762, per Gio. Paolo Giovannelli e Comp.

Che ivi le febbri malariche hanno dominato lo attesta anche il fatto che dal palazzo arcivescovile e dal seminario, posti da quella stessa parte di Pisa, si andava ad *estatare* verso il centro della città.

Ed alcuni vecchi colleghi informano di aver curate le febbri malariche e perfino le perniciose prese fuori di Porta a Lucca, nonchè di aver presenziato dei focolai epidemici con forme gravi e persistenti fuori di Porta a Mare, in Quarantola e lungo il Fosso dei Navicelli.

Abbiamo udito non pochi affermare che assistendo alle rappresentazioni dell'Arena situata fuori della detta Porta a Lucca c'era pericolo di prendere le febbri malariche, ed a memoria di colleghi autorevoli sta il fatto che 30 o 40 anni or sono si ricoveravano negli ospedali di Pisa non pochi malarici dei dintorni della città, mentre oggi i clinici non hanno un malarico da presentare agli studiosi, se non proviene dalla maremma. Gravemente malariche erano le terre palustri poste da Vicarello fin quasi alle porte di Livorno, e dannosi riuscirono i primi lavori di mazzuolatura nel padule di Agnano, perchè concomitanti ad una vera epidemia di febbri malariche estesa a quasi tutti i braccianti adibiti per quei lavori.

Passando infine alla *terza zona*, e cominciando da N., ben può dirsi che presso il lago di Porta, alla foce del Cinquale, e nella pianura in genere di Pietrasanta, l'aria non vi fu mai buona. Sotto il governo di Maria Cristina vi infierì una malsania straordinaria che pare giungesse al massimo verso la fine di detto governo « leggendosi che nell'anno 1638 ben 154 case di Pietrasanta erano disabitate ed altre cadute in rovina pel completo abbandono ».

Le cause di questo flagello si dovessero o no alla diversione del fiume di Seravezza, sta il fatto che sul finire del secolo XVIII vennero scavati nuovi fossi e che nel primo quarto di secolo successivo fu sentito il bisogno di applicare le cateratte automobili agli sbocchi in mare, prima alla foce del Cinquale (1812), poi a quella di Motrone (1819), quindi all'altra del Tonfalo (1821). Il dott. Giovanni Targioni Tozzetti (1), occupandosi dell'aria di Pietrasanta, così scrive: « ... *Pietrasanta* è un luogo che non si può abitare sicuramente senonchè nell'inverno, anzichè nell'estate, quando ei resta quasi affatto spopolato, andandosene i benestanti a villeggiare per i castelli della *Versilia*, e andandosene sino l'Iusdicente con la Corte a stare nel palazzo reale di *Seravezza*. Quei pochi che ci dimorano l'estate, non avendo altrove da rifugiarsi, sono soggetti a tutte le malattie endemiche delle peggiori *Maremme* ».

Il « sommo pregiudizio per la salute » della pianura posta fra i monti e il mare restò fino ai primi del secolo XIX, e restano coloro che rammentano l'estatatura di Pietrasanta a Seravezza, come quella di Grosseto a Scanzano.

Scendendo più a S. si incontra la pianura tributaria della foce di Motrone, ov'era il famoso castello « pomo della discordia tra i genovesi ed i lucchesi da un lato, ed i pisani ed i fiorentini dall'altro (2) » ed in detta pianura, chi ha seguite le principali trasformazioni idrografiche, ha raccolto al tempo stesso dei documenti che comprovano la persistita malsania in

---

(1) *Relazioni d'alcuni viaggi fatti in diverse parti della Toscana, ecc.* Firenze, Stamperia Granducale, 1773, tomo sesto, pag. 336 e seg.

(2) VINCENZO SANTINI. *Commenti storici sulla Versilia centrale.* Pisa, Tip. Pieraccini, anni 1858 a 1862, pag. 221.

questa plaga palustre (1). Proseguendo ancora si legge in un lavoro del dott. G. Sforza (2) che nell'estate del 1768 e 1769 « Viareggio e le sue vicinanze furono di nuovo colpiti dalla malaria. E dai registri della parrocchia risulta che morì 1 su 15 abitanti e l'anno appresso 1 su 40. Tale sciagura si ripetè nel 1784, anno in cui morì 1 su 20, e nel 1785, 1 su 18 ».

« Si legge nei detti libri della parrocchia di Viareggio che nel 1785 su 1769 abitanti 1200 erano ammalati di febbri ». Posteriormente han persistito in questi luoghi recrudescenze malariche gravi, e tutti i vecchi sanno che bastava andare al lavoro nei paduli che contornano il lago di Massaciuccoli per prendersi le febbri eguali a quelle di maremma.

Non più di 18 o 20 anni or sono chi, sull'imbrunire, dalla Burlamacca si fosse recato in barchetta verso il lago, od avesse percorsa la fossa che porta alla cava di Bozzano, difficilmente sarebbe andato immune dalle febbri, come ce ne fan fede persone da noi consultate che nella detta traversata furono colpite da malaria grave e persistente.

Volgendo l'attenzione alle risaie che dal padule di Montramito si distendono fin verso Vecchiano si hanno notizie epidemiologiche che confermano l'esistenza del flagello malarico in quei paduli, perduratovi fin verso la metà del secolo scorso.

Bene a ragione dunque le località palustri da noi prese in esame furon *considerate in altri tempi come « fieramente malariche »*, e nella stessa carta dello stato maggiore austriaco, compilata sotto l'ultimo governo granducale, ancora si designavano come « regioni ove dominano le febbri intermittenti ».

b) Epidemie superstiti. — Nonostante risulti chiaro che nelle zone prese in esame la malaria apportò la desolazione e la morte non meno di quel che si osserva nei territori che restano incolti per tale flagello, tuttavia se andiamo oggi a ricercare delle vere e proprie epidemie superstiti non ne troviamo in nessuna parte, salvo qualche traccia in località circoscritte. Non restano affatto epidemie di malaria nei terreni palustri e sofferenti di scolo della prima zona tranne tutt'al più che *sull'orlo del padule di Fucecchio, verso Ponte Buggianese* dove su circa 3000 persone si contano ogni anno non oltre 30 casi di febbri, per lo più leggere. Ad esempio, nel punto più paludoso, cioè al Capannone, in 2 famiglie di 21 persone, negli ultimi 2 anni ci furono 5 casi di febbri, una delle quali recidivò lungamente, eppure di 6 bambini ivi dimoranti nessuno ha sofferto di malaria. Nell'ultimo anno epidemico, fino al 16 agosto, nessun caso primitivo s'era avuto, ad onta s'abbia trovato in questa plaga due casi di malaria.

---

(1) Ing. G. Cuppari. *Sulle condizioni idrauliche della pianura tributaria della foce di Motrone e sui concetti di massima per la bonificazione della medesima.* Camaiore, Tip. Benedetti, 1900.

(2) *La malaria e le cateratte automatiche in Versilia.* Alassa, tip. E. Medici, 1894.

reduci dalla Corsica, l'uno con terzana estivautunnale, l'altro con terzana lieve.

Nella maggior parte dei terreni della seconda zona la malaria è scomparsa affatto. Solo una lieve epidemia si osserva *nella plaga di Stagno e delle regie tenute.*

Qui l'egregio collega dott. Dario Simoni, medico-chirurgo della Real Casa, ci comunica i casi che alla sua volta ha verificati nella stagione passata, sopra una popolazione stabile di circa 550 persone, e ne trascriviamo l'elenco.

Cognome, nome ed età	Domicilio	Tipo della febbre	Durata della malattia
1. Riparbelli Leopoldo, anni 12.	Sterpaia (S. Rossore) .	Terzana	Dal. 3 al 28 marzo.
2. Riparbelli Stefano, anni 45.	Torretta (Tombolo) . .	Quotidiana	Dall' 8 al 13 aprile.
3. Del Gigia Adolfo, anni 25.	Gombo	Id.	Dal 22 al 26 aprile.
4. Riparbelli Emilio, anni 3.	Cascine Vecchie . . .	Terzana	Dal 28 aprile all' 8 maggio.
5. Riparbelli Laura, anni 4.	Cascine Vecchie . . .	Id.	Dal 2 al 10 maggio.
6. Allegri Aristea, anni 23.	Coltano	Id.	Dal 31 maggio al 15 giugno.
7. Bono Giuseppe, anni 2.	Palazzetto (S. Rossore)	Quotidiana	Dal 15 al 20 giugno.
8. Geraudi Michele, anni 14.	Coltano	Terzana	Dall' 8 al 15 agosto.
9. Carmassi Alfredo, anni 28.	Cornacchiaia (Tombolo presso Stagno).	Id.	Dal 6 al 15 ottobre.
10. Antonelli Ada . . .	Lavoria (Coltano) . . .	Quotidiana	Dal 10 al 18 ottobre.

Nella terza zona infine sopravvive un'epidemia di febbri *a N., nelle adiacenze del Cinquale e del lago di Porta.* Infatti in queste ultime località il dott. D. Calderai già nel 1895 vide un giovane affetto da cachessia palustre e della gente con « faccia gialla, anemica, sofferente »; e sulla destra del Cinquale mise in rilievo l'esistenza di perniciose con casi di morte (1).

(1) *La malaria.* Relazione al Sindaco di Seravezza. Seravezza, tip. A. Boldrini, 1895.

Al Forte dei Marmi le condizioni sanitarie rispetto alla malaria, secondo la stessa relazione Calderai, erano invece migliori, e tali risultavano lungo il decorso del Versilia e nel piano di Motrone. « Dei 370 casi di febbri malariche osservati nel servizio medico del Forte dei Marmi, 250 furono trovati nel territorio compreso fra il Cinquale ed il polverificio Bocconi e Fonzani: 50 furono al Fiumetto e 70 nel paese. Ma questi 70 si verificarono in persone che, o per la pesca, o per la cerca della legna, o per l'agricoltura dovevano portarsi quotidianamente nelle vicinanze del Cinquale ». Nel comune di Montignoso furono osservati 270 casi, circoscritti agli abitanti della marina, « della quale quasi tutti gli abitanti, per non dir tutti, furono attaccati ». Altro stato epidemico si è osservato dal 1890 in poi *attorno al lago di Porta*, ed in alcune famiglie che abitano nei luoghi più palustri delle due zone littoranee, e specialmente alla foce di Fiume Morto ed a Stagno.

Non essendoci fin'ora capitato di poter rivolgere i nostri studi sopra alcuna epidemia superstite di malaria, dobbiam passare alla indagine dei casi isolati.

c) Casi autoctoni. — Mentre alcuni colleghi, come il dott. Dario Scardigli ed il prof. Raffaello Silvestrini, ci comunicano di avere osservati e controllati con l'esame del sangue dei casi di terzana in persone che non si sono mai mosse dalle ridenti colline di Firenze, apparirebbe assai strano che neppure un caso di malaria si riuscisse a vedere nelle nostre zone, che ormai sappiamo quanto sono palustri ed in qual grado siano popolate di anofeli. Con tutto ciò le constatazioni non sono state estese come era nostro desiderio, premendoci l'esame anche dei casi dubbi e molto lievi, e fin d'ora ci professiamo grati ai colleghi ed a tutti coloro che comunque ci aiutino ad appurare le diagnosi relative ai febbricitanti della ventura stagione malarica.

In quella passata le nostre indagini ci hanno intanto dimostrato la presenza di un caso autoctono presso Nodica, di un altro presso la Madonna dell'Acqua, di un terzo in Coltano, di un quarto in Vecchiano, di un quinto alle Rene, di un altro al Troncolo, per la via di Viareggio, di altri due ad Arena e di tre in Vecchializia, tutte terzane, e quest'ultime prese in S. Rossore.

Dopo tanto girare nel territorio palustre di Vecchiano incontrammo una recidiva in Ferdinando Loni di anni 19, che mai si è allontanato dalla propria abitazione, *casetta del legnaio* presso la Cava, ove quasi ogni anno ammala qualcuno più o meno di febbri. Mentre in altre case vicine o sulla gronda del padule, come quella di Bellino, si trovavano numerose famiglie sane, a

casa Micheli, coloni del Duca Salviati, ove abitano 8 adulti e 7 bambini di età inferiore ai 7 anni, nel luglio prese le febbri una donna di 25 anni ed altra di anni 29, solite a lavorare lungo i prossimi fossi di acque stagnanti.

Altri casi comparvero nel decorso anno nella famiglia Baldacci, al Capannone: e dell'esserci malaria autoctona, sia pure eccezionalmente, presso Massarosa, e proprio nelle risaie, potemmo convincerci perfino interrogando le donne che si recavano al lavoro, abituate a tacere per paura che si vada a minare la contrastata esistenza di quella industria.

Il dott. Luigi Bertini, essendo a Quiesa, verificò un caso di malaria (terzana tipica) in certa Ersilia Laucci, addetta al lavoro in terreni confinanti con le risaie Minutoli e Del Bianco. Natale Franceschi di Agostino fu visto periodicamente andar soggetto alle febbri terzane nell'attendere in padule al falasco. Un pastore proveniente dall'alta Garfagnana, giunto a Quiesa, vi prese la malaria, come avvenne della famiglia colonica Del Chiaro, che da Stabbiano andò a dimorare nella località detta Sciola. Infine lo stesso dott. Bertini ci afferma che il vecchio farmacista di Quiesa (Bigongiari) una volta non soleva vendere che chinino, e ancora ne deve acquistare chi batta qualche febbretta presa in padule, o nelle risaie.

Febbri malariche lievi, autoctone se ne vedono in Migliarino, nelle reali tenute, e meno di rado a Stagno, come sopra abbiamo notato.

La malaria è a considerarsi *totalmente scomparsa* dal padule di Agnano, da Quarantola, dai dintorni della città di Pisa, da Barbaricina, e dal padule Maggiore, padule in cui si può lavorare e si lavora impunemente, salvo qualche febbre non insistente, la cui natura non potemmo verificare con esami del sangue.

Il dott. Pirro Forti ci comunica che nelle bassure di Metato, Arbavola e Nodica non osserva da qualche anno che rarissimi casi di malaria autoctona, nè gli è apparso che coincidano col giungere del falasco presso le case coloniche, col quale falasco vengono di solito portati innumerevoli anofeli. Così il distintissimo collega sig. Giuseppe Del Lupo ci accerta che non esistono più in Arena « le febbri intermittenti a tipo terzanario e nemmeno le semplici larvate malariche che si vedevano con discreta frequenza 20 o 25 anni fa! »

Se dalle zone littoranee si passa ai paduli di Fucecchio e Bientina la questione della malaria autoctona diventa molto ardua a volerla risolvere sulla base delle notizie contraditorie e delle pubblicazioni che abbiamo sott'occhio.

D'altra parte nell'anno epidemico decorso non potemmo con l'esame del sangue accertare in queste località che soli due casi primitivi di terzana, per cui da un lato acquistammo la convinzione che pure dalla prima zona la malaria autoctona non possa affatto escludersi; e d'altra parte avemmo agio di apprezzare le numerose affermazioni dei colleghi che oggi per la malaria di queste terre non han più veruna preoccupazione.

Da uno sguardo a questi luoghi palustri ed estesi dai quali la malaria è scomparsa, o sta come a comprovare l'attenuazione avvenuta

negli ultimi tempi, ben possiamo concludere che non rimane da farsi che un più esteso ed accurato controllo dei casi primitivi, interessando dal lato scientifico di possedere la maggior possibile conferma del fatto che a noi già risulta, che cioè i rari e per lo più lievi casi di febbri che qua e là compariscono si debbono quasi esclusivamente al parassita della *terzana lieve*. Per questa via si elimineranno le numerose contestazioni sorte; ed il giudizio sulla malaria di queste regioni sarà sottratto ed all' influenza di coloro che mettono troppa buona volontà nel diagnosticare la malaria nei luoghi ove torna conto invocarla in pro delle bonifiche, ed al giudizio di chi tende a negarne anche le più miti tracce nelle risaie, od ovunque si vogliono conservate le coltivazioni palustri più remunerative.

In ogni modo *i pochi ma certi casi di malaria autoctona che si verificano qua e là sono importantissimi a studiare molto accuratamente; giacchè con le moderne teorie, prese in senso troppo assoluto, è arduo spiegare non solo la non diffusione del contagio ma eziandio la loro genesi autoctona*. Ripetiamo perciò ai nostri colleghi la preghiera di volercene segnalare ogni caso anche dubbio che si verificasse nella ventura stagione malarica.

d) Casi importati. — Rivolta fin da prima la nostra attenzione alla malaria che poteva essere importata, riuscimmo ben presto ad assicurarci che *davvero non mancano nelle nostre zone i malarici che vengono dalle località più infette, e che con le loro febbri non di rado recidive, e più o meno ostinate, portano e mantengono il germe del contagio.*

Tale condizione si verifica da tempo molto remoto, cosicchè lo stesso Gaetano Giorgini, mentre nel 1863 scriveva « che la Maremma oppone ostacoli insuperabili alla prosecuzione dei lavori nella stagione estiva, per l'assoluta mancanza di braccianti » aggiunge poi che « tutti (Aquilani, Pistoiesi, Lucchesi, Pisani e Chianini) ritornano ai loro paesi. »

Ed invero, molti abitanti dei luoghi esplorati emigrano per lavorare in Algeria, Corsica, Sardegna, maremma di Grosseto e talvolta anche di Roma; altri tornano dall'esercito in convalescenza; si ricorda qualche operaio febbricitante venuto a lavorare nelle torbiere; insomma ogni anno nei mesi di estate e autunno i parassiti malarici nel sangue non mancano.

Quasi ogni medico racconta simili casi di febbricitanti, reduci da lande pestifere, senza che si svolgano epidemie domestiche di febbri; e sì che di zanzare anofele nelle camere, ove dormono accumulati, non c'è difetto davvero!

Da una relazione rimessaci dal collega dott. Chetoni di Vecchiano, fino dai primi di agosto del decorso anno, si rileva ad esempio che il 18 maggio, sei operai di Nodica, partirono per la Corsica e si recarono a Millucciano, luogo distante 7 o 8 chilometri da Bastia. Là tutti contrassero una così grave infezione malarica che furono costretti a rimpatriare prima che fosse finita la stagione della frullanatura e custodimento dei fieni. Sbarcati a Livorno il 9 luglio, uno morì di perniciosa nell'ospedale di questa città, gli altri giunsero a Nodica. Di questi uno morì pure di perniciosa il 15 luglio, e degli altri quattro, che portarono le febbri anche nell'agosto, vi fu chi ebbe perfino bisogno di iniezioni d'idroclorato di chinino per liberarsi dalla minaccia di perniciosa. Per quanto questi ammalati dormissero in comune con la moglie ed i figli e fossero circondati da anofeli che pungevano gli uni e gli altri, a nessuno si propagò la malaria. I dottori Domenici e Forti di questa zona testimoniano fatti analoghi da loro presenziati ripetutamente.

Il primo, che abita presso Pontasserchio, nella sola estate decorsa visitò i malarici seguenti:

1. Santoni Oreste, 27 anni, di Pontasserchio, affetto da febbre di malaria tipo quotidiano, contratta a Roma.
2. Santoni Nicola, di anni 29, id., id.
3. Santoni Ulisse, di anni 22, id., id.
4. Santoni Cesideo, di anni 38, id., id.
5. Chericoni Vittorio, di anni 40, id., id.
6. Chericoni Oreste, di anni 18, id., id.
7. Chericoni Giuseppe, di anni 35, id., id.
8. Chericoni Fortunato, di anni 25, id., id.
9. Ciardelli Ciuseppe, di anni 27, id., id.
10. Stranti Antonio, di anni 28, affetto dallo stesso tipo di febbre malarica, ma contratta a Vicarello.
11. Fanti Marianna, di anni 12, affetta dallo stesso tipo di febbre malarica, ma contratta alla Pineta (tenuta R. di S. Rossore).
12. Teresa Gennari, di anni 12, stesso tipo contratta in detto luogo.
13. Baccelli Alfredo (visitato allo studio) di anni 28, di S. Frediano a Vecchiano, affetto da febbre malarica tipo quotidiano, contratta nelle campagne di Marsiglia.

Il Dott. Francesco Biondi, ufficiale sanitario di Ponte Buggianese, asserisce di avere curati durante il suo esercizio medico in quel paese oltre 100 malarici che contrassero l'infezione in paesi lontani e che mai vide contagiarsi i familiari, sebbene anche qui le condizioni di trasmissione della malattia si presentassero sotto ogni punto di vista favorevolissime.

Noi stessi nel decorso anno, esplorando la pianura di Valdinievole, abbiamo incontrati 3 casi di febbri e coll'esame del sangue abbiamo confermata la diagnosi, clinicamente già indubbia, di febbre estiva in una donna, di terzana lieve in un operaio, entrambi reduci dalla Corsica. Nel 1890 ne furono verificati 1 ad Oratoio, 2 a Putignano ed 8 a Campo. Dal 1891 a tutto il 1901 oltre 68 malarici gravi sono rimpatriati nella zona meridionale del comune di Pisa.

Altrove il contagio sarebbe inevitabile. Qui invece, in questa

felice regione, i bambini nati e cresciuti in mezzo alle paludi, si vedono belli e rosei, mentre sono altrove i più certi indicatori della malaria; gli adulti sono talora squallidi per la pellagra, non per malaria; e non di rado se ne vedono di quelli arrivati a lunga età. vivendo sui paduli, senza conoscere la febbre. Una quantità di gente, pescatori, cacciatori, falciatori, spurgatori di fossi, contadini, abitualmente vivono senza contrarre malaria in questi luoghi palustri. Ad esempio abbiamo incontrato verso Massaciuccoli una colonia di bambini e donne che stanno giorno e notte a custodia dei pomidoro, entro capanne, come quelle della campagna romana e pontina, ove certo non si salverebbero dalle febbri. Così pure pochi anni or sono circa 200 operai lavorarono benissimo e dormirono, in pieno padule di Fucecchio, verso Porto Faina, proprio nel mese di agosto, quando in altre paludi ogni lavoro si deve sospendere per causa della malaria, e fra di essi c'era anche un malarico venuto da fuori, con febbri lungamente recidive.

***

Non contenti dell'eseguite constatazioni e delle notizie copiose e concordi che tanti gentili colleghi ci avevano fornite, *mettemmo qualche malarico in mezzo a bambini e bambine, e lo tenemmo senza cura specifica*. Anche per tale via abbiamo avuto dei colleghi che ci hanno seguiti: e qui dobbiamo ringraziare fra gli altri il dott. Francesco Biondi, che ad un malarico proveniente dalla Corsica e che viveva in contatto di circa 30 bambini, in ambienti bassi, con annesse stalle, ed in mezzo a nuvoli di anofeli, non somministrò chinino per oltre 20 giorni, senza che alcuno dei familiari e vicini fosse preso da febbre.

Altri 4 malarici venuti dall'Alberese li abbiamo tenuti a contatto di 9 bambini che mai avevano sofferta questa malattia, e ciò per oltre 26 giorni, senza che fosse somministrato il chinino.

Anche in questo caso, in cui l'esperimento si fece in condizioni ottime, sia per le forme dei gameti di terzana lieve nel sangue degli infermi, sia per gli anofeli adoperati (*An. claviger* e *pictus* delle capanne di padule e non delle stalle), sia per la recettività di coloro che si erano esposti al contagio, questo non avvenne.

Ovunque si ebbe notizia che si trovava un malarico ci recammo al suo domicilio per far sospendere la cura specifica, esaminare il sangue e favorire fin dove era possibile le condizioni adatte al propagarsi della malattia.

Ma anche oggi, dopo i tentativi fatti, dopo tante inchieste locali, eseguite caso per caso e ripetutamente, possiamo dire che nelle nostre zone palustri, ove gli anofeli abbondano, ed ogni anno tornano dei febbricitanti gravi, o i casi di malaria sono da qualche tempo scomparsi, o ce n'è qualcuno rarissimo e lieve; ma sempre senza contagio ai parenti ed ai vicini.

Risulta adunque che *nelle zone studiate, l'uomo infetto, o convalescente di malaria, non è come in certe altre località, pericoloso per l'uomo sano, essendochè i casi importati non danno luogo a contagio.*

IV.

Cause della scomparsa, o della non diffusione della malaria, nelle descritte località.

Quant'abbiamo fin'ora esposto, se non modifica in sostanza le proposizioni formulate in servigio della moderna etiologia della malaria, toglie loro per certo la presunta dignità di assiomi. E mentre sulla falsariga di queste proposizioni, od assiomi, si riteneva che tutto riuscisse di facile esplicazione, ci troviamo ora ad iniziare la ricerca di cause, che tanto più meritano un esame attento ed obbiettivo, in quanto ci sembrano molto ardue e complesse.

Analizziamo particolarmente quelle di queste cause che si presentano per prime all'esame.

a) Immunità organiche. — La notata scomparsa o non diffusione della malaria non può in fatti attribuirsi ad immunità naturale od acquisita, poichè la naturale, o congenita, oltre essere esclusa per gli abitanti di plaghe malariche dalle cognizioni ormai entrate nel dominio di tutti (1), non si concilia affatto con i reperti epidemiologici già esposti.

L'immunità acquisita neppure è da invocarsi, non solo per la facilità con cui gli operai delle nostre zone contraggono l'infezione appena vanno a lavorare nei terreni malarici lontani; ma anche per la relativa frequenza con cui ne ammalano coloro che, abituati a vivere magari in un padule che da vari anni sia diventato immune, si recano in altro luogo limitrofo in cui qualche vestigio resti del trascorso periodo malarico.

(1) Angelo Celli. *Sull'immunità dall'infezione malarica.* Questi Annali, 1899.

Così avviene che alcuni braccianti dei paesi di lungo monte prendono le febbri nelle reali tenute, od in quella di Migliarino; e che le persone di Viareggio, o delle pendici dei monti che ne contornano la pianura, non vanno sempre esenti dalla malaria praticando nel padule di Montramito, alla foce di Motrone, del Cinquale, o verso il lago di Porta.

b) Cura specifica. — Insistere sulla immunità ci è parso superfluo; ma potrebbe da taluno obiettarsi che quella acquisita con l'uso del chinino ha da mettersi in primo posto. Secondo Grassi « l'uso del chinino, la grandissima diminuzione degli *Anopheles* in seguito alle estese opere di bonifica e le temperature basse, spiegano in modo plausibilissimo la scomparsa o quasi della malaria nell'Europa media senza che si siano estinte le specie degli *Anopheles* (1) ».

Noi peraltro, interpellati i numerosi colleghi che ci furono cortesi di notizie particolareggiate e precise, possiamo, quanto al chinino, asserire che « certamente non si è dato e non si dà nè più nè meglio, nè da più lungo tempo che altrove dove la malaria persiste ».

Bisogna quindi distinguere ciò che con la cura specifica può ottenersi secondo l'indirizzo odierno, e quello che di vantaggioso la detta cura può aver prodotto per il passato.

Non occorrendoci di discutere il primo quesito, si trova il secondo a parer nostro risoluto da questi dati di fatto: che cioè l'uso del chinino nella Valdinievole fu meno generalizzato che nel littorale donde la malaria si è dileguata più lentamente e più tardi; che in generale nelle nostre zone si prescrivono, a pari grado di malattia, dosi inferiori a quelle cui sono abituati i medici di maremma; che infine per il solo uso del chinino dovrebbe essersi avverata la scomparsa della malaria anche da Roma a Pisa. In altri termini, per attribuire alla cura specifica un valore essenziale, bisognava ci fosse mancato il confronto fra quello che si è fatto e si fa nelle zone studiate e ciò che praticasi nelle terre vicine in cui la malaria porta ognora la desolazione. Tali confronti riescono a chiunque palesi, e per conseguenza non ci è dato riconoscere nell'uso del chinino un'influenza apprezzabile sulla mutata fisonomia malarica di tante e vaste regioni.

c) Bonifiche. — È uno sguardo puramente sommario che rivolgiamo alle bonifiche, sia dal lato idraulico che agricolo, inquantochè il problema della malaria, sempre mantenuto connesso alle opere di boni-

---

(1) *Studi di uno zoologo sulla malaria.* — Roma, 5 ottobre 1901, pag. 83.

fica, sembra che con queste abbia stabilito dei nuovi rapporti che meriterebbero indagini maggiori e più minute. A tal proposito siamo d'avviso che soverchia autorità si assumerebbe colui che dai numerosissimi documenti, i quali si trovano negli archivi toscani a testimoniare di vicende idrografiche molteplici andate, a quanto si dice, di pari passo col migliorare o peggiorare della malsania dei luoghi esaminati, togliesse soltanto ciò che conforta le vedute teoriche d'oggi, mettendo poi da parte il resto come materiale inutile, od inservibile.

A noi però i particolari sono serviti per risalire a delle linee di massima secondo le quali andiamo oltre.

Quanto al padule di Fucecchio giova rammentare che in seguito alla applicazione delle cateratte di Ponte a Cappiano si raggiunse uno stato di fatto che è andato peggiorando.

Ciò devesi alle opere di colmazione resesi lente, non disciplinate ed in qualche luogo impossibili, per cui ne è venuto un soverchio rialzamento della parte inferiore. E se a ciò si aggiunge, secondo l'ing. Clive, (1) « il progressivo disordine dei principali corsi d'acqua i cui fondi sono venuti elevandosi fin sopra a molte campagne, riempiendosi e restringendosi per le continue abusive piantagioni nelle golene, e riducendo dei fiumi originariamente larghi trenta o quaranta metri a fossatelli di quattro o cinque metri di larghezza » siffatte condizioni assai tristi ci autorizzano a considerare il padule nella citata fase di peggioramento, anzichè in una situazione invariata.

Come si trovi, dal punto di vista idrografico, il padule di Bientina si vede manifesto dall'unita Carta, in cui è segnato il perimetro di inondazione, indice del difficoltato scolo delle acque che si posson raccogliere in questo grande bacino. Nel mezzo del padule trovasi uno spazio detto « Isola », avente una casetta per asilo di pescatori. Quest'isola doveva essere più estesa; come lo comprovano alcuni documenti storici consultati. Dunque anche qui il regime delle acque non può dirsi migliore che nei tempi in cui Paolo Savi ed il suo aiuto Ranieri Passerini vi ricercavano le cause della *cattiv'aria*.

Con tutto ciò da questa prima zona la malaria si dileguò così per tempo, che alcuni idraulici autorevolissimi, dal vedere nella Valdinievole tutta il mal governo delle acque, come nel littorale versiliese e maremmano, mentre tanto diverso risultava lo stato

(1) *La bonificazione del padule di Fucecchio e della adiacente Valdinievole.* — Firenze, 1898.

malarico, ne trassero argomento per sostenere i danni della miscela delle acque salse con quelle dolci.

Chiunque passi a conoscere le opere di bonifica che nelle due zone littoranee da secoli si sono escogitate, e veda quante trasformazioni idrografiche ed agricole vi si sono succedute, potrebbe essere indotto ad attribuire tutto o gran parte dell'attuale benessere alle note trasformazioni. Senonchè, prima di accogliere tale opinione, è d'uopo riflettere che il vicino territorio di Vada, anch'oggi malarico, e parimente situato sul mare, fu soggetto a bonifica fin dal Governo toscano, fra il 1826 e il 1830; e che nel 1860, per conto del demanio, furon facilitati gli scoli nello stesso padule di Pozzuolo.

Occorre altresì rammentare che nonostante si voglia attribuire la poca malaria rimasta nella Versilia alla rottura e all'abbandono delle cateratte del Cinquale, e viceversa, la malaria cacciata da Viareggio e adiacenze al buon funzionamento delle cateratte della Burlamacca, certo è che in località molto infette le stesse cateratte automatiche non han fatto buona prova, e nei luoghi da noi visitati restano così gravi inconvenienti dal punto di vista idrografico, da doversi sotto tale riguardo considerare migliori assai tanti altri territori del littorale soggetti ancora al flagello malarico. Occorre poi tener presente quel sistema di bonifica a rovescio che si è visto nel padule di Vecchiano sotto il nome di allenzatura o mazzuolatura, e la condizione che creano le mareggiate, dominante il libeccio, ai corsi d'acqua che dalla pianura e dai paduli sfociano in mare. Tali canali o fiumi, che mancano del volume d'acqua bastevole per mantenersi officiosi vanno soggetti ad avere non di rado la foce ostruita per insabbiamenti. Lo stesso fiume Morto ce ne dà un esempio. Di qui i rincolli, lo spagliamento delle acque nei luoghi più bassi, e per la deposizione dei materiali sospesi l'inalzamento degli alvei. Questi, per giunta, possono trovarsi ingombri e perfino ostruiti dagli ingenti cumuli di piante acquatiche, piaga questa grandemente favorita dalla diminuita commistione delle acque dolci con le salse, al quale scopo doveano servire le cateratte qua e là costruite.

In queste zone littoranee, così vicine al mare e così altimetricamente disgraziate, nulla si può dire che faccia difetto di quel che giova a mantenervi gli impaludamenti più tipici. Nè maggiori impaludamenti si trovano nella maremma toscana per i tentativi di prosciugamento o bonifica fatti dal 1828 al 1859 e quasi mai interrotti, come si desume dalle memorie del Fossombroni, Tartini, Salvagnoli, Manetti e Giorgini.

Anche nel rapporto dell'ing. Carlo Noè, letto nella seduta del

17 marzo del 1863 in seno della Commissione istituita per istudiare le condizioni idrauliche e fisiche della maremma toscana e della Sardegna ed il loro bonificamento, trovasi il ragguaglio delle spese incontrate e la descrizione di tutte le opere eseguite, comprese quelle relative a Vada ed a Cecina. Nella relazione Baccarini del 1872 e negli uffici del Genio civile si hanno pure notizie dei tentativi fatti per redimere con espedienti idraulici la nostra maremma dalla piaga malarica.

Possiam dunque dire che *se milioni e milioni furono spesi per tentar di asciugare i paduli e gli stagni che figurano nella nostra carta, non minori tesori si profusero per il prosciugamento delle località in cui la malaria ha persistito ad infierire*, pur vedendosi in quest'ultime ridotto lo specchio delle acque ed aumentato il franco per le coltivazioni. Dinanzi a questi fatti c'è chi ha emessa l'opinione che una bonifica possa riuscire a cacciar la malaria in quanto soddisfi a ridurre al minimo le oscillazioni dell'acqua in un sito palustre, e c'è chi attribuisce dinanzi al fenomeno malarico più efficacia risanatrice alla mano d'opera consecutiva all'ottenuto regime delle acque con opportuni canali, anzichè all'insieme dei canali stessi. Tale opinione, collegandosi intimamente con la *bonifica agraria*, ci porta ad osservare che nelle nostre zone l'agricoltura può avere beneficamente influito sotto questo punto di vista, che neppure un palmo di superficie, palustre o no, vien lasciata in abbandono. I corsi d'acqua vengono nettati dalle erbe; i fieni, il falasco, la cannella ed altre piante necessarie per i bisogni dei coloni vengono tagliate ed asportate regolarmente, costituendo così un vistoso cespite d'entrata. Tutto in questi luoghi si utilizza e si raccoglie, per cui il rinnovamento e della vegetazione e del suolo si opera in modo regolare e costante.

Al cospetto però di tanto svariato progresso agricolo, noi dovremmo dedurre che ha influito sulla scomparsa della malaria, tanto la cultura intensiva che si ammira fin sulle gronde dei paduli di Fucecchio e di Bientina, quanto la più volte citata allenzatura che si pratica nel Vecchianese per i pomidoro, come la tenuta della pianura a fieno, e quella del padule a cannella, giuncheto, falasco o risaia.

Ma tutti sanno quanto mai si è scritto fin da antico sulla reputazione che le risaie si son conservata di fomite della malaria micidiale, e come questa possa regnare sovrana nei paduli la cui flora non differisca da quella che abbiamo vista nelle nostre zone. E se spingiamo l'osservazione alla stessa flora dei vegetali meno utilizzati per i bisogni agricoli, ci troviamo dinanzi ad una certa unifor-

mità che non ci autorizza per ora a dover segnalare delle differenze marcate fra i paduli malarici e quelli più salubri, a meno che tali differenze non si riscontrino per i microfiti ed i microzoi, ai quali non si è ancora estesa la nostra indagine.

Del resto abbiamo dimostrato che nelle località studiate, i tentativi di bonifica hanno tutt'altro che fatte scomparire le aree palustri, e che dappertutto si trovano le zanzare del g n. *Anopheles*.

Date quindi le condizioni idrauliche ed agricole delle nostre zone, e data la diffusione degli anofeli, non solo non vediamo come la malaria possa essere diminuita e perfino scomparsa in relazione cogli anofeli stessi; ma non sappiamo neppur comprendere quali e quanto enormi spese si richiederebbero per affrontare il problema di un nuovo regime idraulico per queste zone, capace di rendere incompatibile od almeno difficile lo sviluppo delle larve appartenenti al predetto genere Anopheles.

Giunti a questo punto, bisogna ricercare in altri campi e per altra via il vantaggio igienico ed economico delle bonifiche. Ma noi andremo oltre, rammentando che son già noti altri ed efficaci mezzi di lotta contro la malaria, economicamente e praticamente attuabili ed attuati con profitto sicuro.

d) Condizioni meteorologiche. — Le affermazioni messe innanzi che in località con anofeli senza malaria *due spiegazioni soltanto sono possibili:* o che gli *Anopheles* costituiscano una *razza immune da parassiti malarici*, ovvero *la temperatura sia troppo bassa per la moltiplicazione di detti parassiti* (Grassi), ci fan passar sopra sulle vicende meteorologiche in genere, per vedere un po' qual'importanza attribuire alle *basse temperature*. Per apprezzarne l'influenza par chiaro che due fondamentali circostanze debbano avverarsi: la prima che la malaria persista solo nelle regioni più calde di quelle da noi segnalate; la seconda, che in queste stesse zone sia accaduto un graduale e progressivo raffreddamento, a datare almeno dalla fine del secolo XVIII.

La distribuzione geografica della malaria è nota abbastanza perchè chiunque possa sapere, come ad esempio nell' Emilia, nella Lombardia e nel Veneto, esistano delle località così malariche da non potersi neppur confrontare con le nostre. Ma come se ciò non bastasse, si rammenti che a N. della 3ª zona persiste qualche caso di malaria più che a S. della 2ª, e che osservando una carta in cui la morbosità e mortalità per malaria sia repartita per provincie, a nessuno verrà in mente di sostenere la tesi che la malaria persiste solo nelle plaghe più calde di quelle da noi studiate.

Per chiarire questa verità, di per sè evidentissima, ci siamo procurate le osservazioni meteorologiche delle stazioni più vicine ai luoghi infetti, situati più a N. ed entro terra; ma ci si astiene dal riportarne i dati per non far supporre discutibili dei principii di geografia fisica ormai da tutti conosciuti.

Quanto al graduale e progressivo raffreddamento, poichè scriviamo d'una regione dove le osservazioni meteorologiche non sono scarse, abbiam voluto consultare gli Osservatori di Livorno, Pisa, Lucca e Pescia, e di Camaiore, che può anche vantarne delle antiche e per noi utilissime.

Basta infatti avere sott'occhio i « *Resultati Meteorologici di anni quarahta* del canonico Pierantonio Butori (1) » per leggere come egli non accettasse fin da quei tempi un'osservazione fatta da certo signor Toaldo, al quale era risultato che a Padova, nello spazio di anni 35, il caldo era diminuito di un grado (R) e cinquantanove centesimi. « Guai agli abitatori futuri della terra » scrive il Butori « se il caldo andasse scemando in sì rapida progressione. Dopo il lasso di pochi secoli la nostra deliziosa Italia stessa diverrebbe una agghiacciata Siberia » (2). Noi, senza entrare nei particolari, del resto pregevolissimi, dell'opera del Butori, riferiremo soltanto che in sì lungo periodo, il quale presso a poco coincide con la malaria nelle nostre zone, fu osservato il massimo freddo di gradi — 6 (gr. C.-7, 5) il dì 31 di dicembre del 1788, ed il 1° gennaio del 1789; il massimo caldo, gr. 29. 60 (gr. C. 37) nel 2 agosto del 1783.

Le medie mensili d'allora, se si potessero confrontare esattamente con quelle attuali, come abbiamo fatto in via approssimativa, si vedrebbero differire di poco. In fatti un secolo dopo si sono osservate le dette medie per decenni non sostanzialmente dissimili e si sono avvertite delle massime assolute di gr. C. 36°, 36°. 5, 36°. 6 e 37°. 4, con delle minime di gr. C. — 6°. 2, — 6°. 5. Pur lievemente differisce la media annua, che, secondo il Butori, è per il quarantennio di gr. 11. 55 (gr. C. 14. 43), mentre quella attuale di Pisa, Lucca, Viareggio, Asciano e Pescia oscilla appena intorno ai gr. C. 14° e 15° C., con annualità che vanno a C. 15°. 1, 15°. 4, 15°. 7 e 15°. 8.

Se infine si confronta la temperatura media annua, o mensile, dei luoghi più infetti, con quella delle nostre zone, mancano quei diretti rapporti che furono supposti.

---

(1) Lucca, dalla Tipografia di Francesco Bertini, 1817.

(2) Op. cit., pag. 22.

Non troviamo dunque da noi, a breve distanza dalle zone così malariche di Vada e della pianura di Castagneto, una fredda temperatura estiva od annua, che possa avere influito sulla scomparsa della malaria, nè sappiamo su qual fondamento meteorologico basare le cause del fenomeno inesplicabile che ci spinge ad altre ricerche.

e) Biologia degli Anopheles. — In tutta la zona da noi perlustrata si osserva, come del resto anche altrove, che di anofeli se ne trovano moltissimi dentro le stalle che sono a pian terreno, mentre ne trovan ben pochi nelle camere d'abitazione che sono per lo più al primo piano. Gli stessi contadini sanno che pungono ben volentieri. e quasi direbbesi, a preferenza gli animali, onde si chiamano in qualche luogo anche zanzare bovine, mentre invece le zanzare catturate nelle capanne pungono l'uomo più di quelle catturate nelle stalle.

Per queste zanzare anofele e quelle dei luoghi malarici, con la sua indiscutibile autorità non ha trovato differenze macroscopiche il prof. Ficalbi, come non ne ha trovate neppure nei numerosi casi di stato palustre od anofelico senza malaria, che ha raccolto e fatto raccogliere nell'Alta Italia.

Per indagare se e come le zanzare delle zone da noi studiate si potessero infettare abbiamo proceduto nel modo seguente:

Gli anofeli si catturavano nel dopopranzo per lo più nei paduli di Massarosa e Vecchiano, e si raccoglievano in barattoli con dentro qualche filo d'erba: la mattina dopo venivano liberati a Roma in apposito camerino, ove si potevano mantenere in vita abbastanza bene; tant'è vero che all'inizio dei nostri esperimenti se ne trovarono di quelli che vi si erano sviluppati da larve un mese prima.

La sera nel camerino suddetto si facevano entrare 1 o 2 semilunari, avvertendo che questi malati si sceglievano fra quelli che a S. Spirito o a S. Giovanni presentavano il maggior numero di gameti nel sangue.

Potemmo così usufruire 5 di questi malati; uno, ad es., che fu usato dal 7 al 24 ottobre nei primi giorni avea 5 semilune in media per campo microscopico, e negli ultimi giorni ne avea ancora 3-4 per ogni preparato di sangue.

Prima di questi malati usufruimmo anche un terzanario lieve e un altro buon semilunare, facendoli pungere a S. Spirito con le prime zanzare che sugli ultimi di agosto e all'inizio di settembre vennero spedite da Massarosa a Roma.

Nel suddetto camerino ogni sera un centinaio circa di zanzare, qualche volta anche 3-4 cento giravano attorno alle parti scoperte dei malati senza pungerli, anche quando si posavano sulla pelle ed erano da giorni vuote di sangue.

Due abili infermieri raccoglievano col tubetto di assaggio qualcuna che

pungeva dopo molti stenti, e con lo stesso tubetto ne tenevano altre addosso alla pelle.

Per farle pungere spalmammo anche la pelle dei pazienti con la strigliatura del bue, secondo il consiglio del dott. Gazzarini di Vada, ma senza risultato più favorevole.

Le zanzare che avevano punto si tenevano in barattoli col coperchio chiuso con garza e ovatta, nei primi giorni a digiuno, e poi, digerito il sangue, nutrendole con fichi o melone che si ricambiavano ogni giorno. E si tenevano sempre alla temperatura della stanza, tranne che per qualche ora del giorno si mettevano nella camera-stufa a 28°-30°.

In novembre, quando era più freddo, ponemmo addirittura le zanzare venute da Massarosa entro un camerino apposito situato in una camera riscaldata a 20°-22°. Si uccidevano ed esaminavano le zanzare quando aveano digerito il sangue, e fino a 8-10 giorni dopo che avevano punto.

Facemmo i primi infruttuosi tentativi di infettare le zanzare nella 2ª quindicina di agosto e nei primissimi di settembre, e poi metodicamente quasi ogni sera dal 28 settembre al 10 novembre.

Abbiamo così potuto utilizzire circa 2000 zanzare: di queste punsero solo 70 (3, 5 °/₀ circa). Delle 70 che punsero se ne trovarono infette 2 sole, una del 12, l'altra del 14 ottobre.

Sullo stesso malato, nei giorni 8-11 ottobre quando il sangue era pienissimo di gameti (5 in media per campo microscopico) punsero 10 zanzare, e altre 26 ne punsero dopo, dal 15 al 24 senza mai infettarsi.

Perchè di 38 zanzare che punsero uno stesso malato e furono tenute nelle identiche condizioni, se ne infettarono due sole? E perchè delle altre 32 che punsero gli altri malati, col sangue contenente gameti, non se ne infettò nessuna?

È questo un fatto biologico così interessante che ci proponiamo di seguitarlo a studiare e a sottoporre ad altre svariate osservazioni sperimentali nella ventura stagione estivo-autunnale.

Vedremo allora se nei luoghi di anofelismo senza malaria si abbia una varietà di zanzare generalmente immuni da infezione emosporidica.

Se così fosse potrebbesi agevolmente spiegare tutto il corredo di fatti da noi osservati; rimarrebbe però sempre a sapersi come e perchè avvengano simili benefiche trasformazioni nelle proprietà biologiche di insetti che altrove si mantengono così pericolosi; e se avvengono, in quanto tempo e per quali cause; e se, infine, alcune di queste cause potrebbersi, per opera nostra, riprodurre; il che avrebbe una gran portata agricola, igienica ed economica.

Lasciando però alle ulteriori indagini, che ci proponiamo di fare,

la soluzione di questi e simili problemi ancora così oscuri, e così interessanti dal punto di vista epidemiologico e profilattico, possiamo per ora concludere che: 1° *In regioni palustri senza malaria vi hanno delle zanzare anofele che pungono pochissimo* (3,5 %) *l'uomo, e in ogni caso lo pungono sempre molto meno che quelle della maremma romana o toscana* (1); 2° *delle pochissime che pungono, se ne infetta una percentuale assai scarsa* (2,8 %).

V. — *Conclusioni.*

Sono molto numerose ed estese in Toscana le località palustri senza la propagazione della malaria, ad onta della presenza di numerosi anofeli, dell'arrivo di malarici dal di fuori, e dell'eventuale scoppio di qualche autoctono caso di febbre.

Di queste località palustri e anofeliche, dove prima regnava endemica la malaria grave, se ne trovano anche nell'alta Italia (Ficalbi), e sarà necessario farne accurata ricerca per tutta l'Italia media e superiore; nel mezzogiorno e nelle isole non ne vennero ancora segnalate.

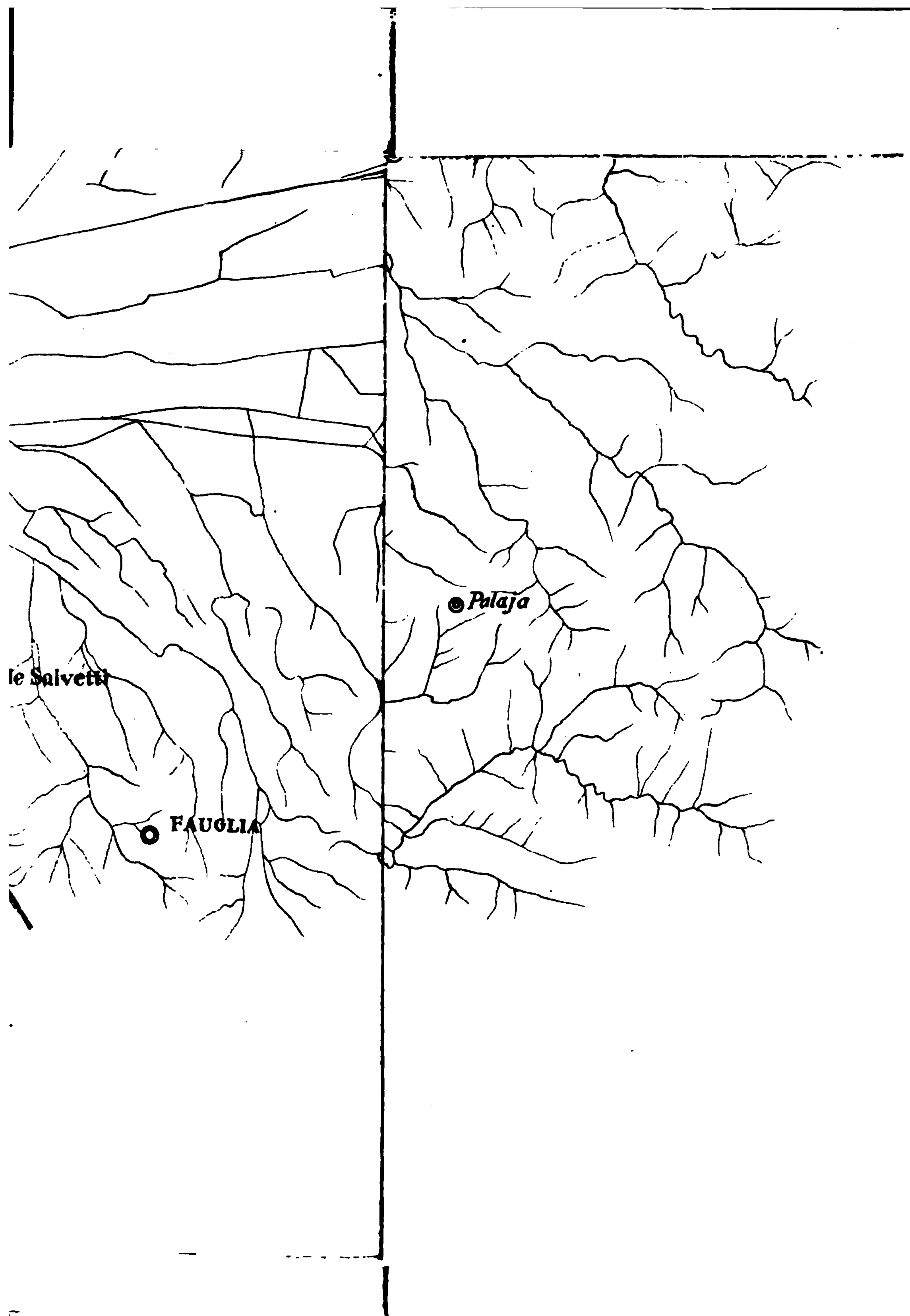
La causa di così interessante fenomeno non può finora certamente ed esclusivamente rintracciarsi nè in immunità organiche delle popolazioni, nè senz'altro in cure specifiche col chinino ovvero in bonifiche idrauliche od agrarie, e nemmeno in condizioni meteorologiche.

Siamo forse in presenza di un fatto che si riannoda intimamente con la biologia delle zanzare, e che, in ogni modo, non scuote, secondo noi, ma conferma la regola, cioè non infirma la nuova teoria che poggia sopra un fondamento incrollabile di osservazioni etiologiche, epidemiche e profilattiche. E neppure autorizza senz'altro a supporre che altri veicoli dell'epidemia siano tuttora ignoti, se con tutte le sopradette condizioni predisponenti, non c'è pur tuttavia la malaria.

---

(1) Il dott. Gazzarini a Vada per nostro consiglio e con materiale da noi fornitogli ha ripetuto le nostre ricerche. Egli ha trovato che delle zanzare di maremma toscana ne punsero contemporaneamente il 50 % e se ne infettarono il 7 %; di quelle del Vecchianese e di Massarosa con parecchi artifizi ne punsero il 20 % e di 40 che succhiarono sangue con gameti non se ne infettò nessuna.

È notevole che Vada è nella stessa provincia di Pisa, al confine fra la zona di malaria grave, e la zona palustre senza malaria.



Palaja
le Salvetti
FAUGLIA

Certo è ancora inesplicabile il fatto di casi perfettamente isolati ed autoctoni di malaria; però in epidemiologia non è nuovo il caso di malattie, le più tipicamente contagiose, come peste bubbonica e lebbra, che quando si attenuano si riducono a casi sparsi e isolati, senza più la possibilità di contagio.

In Olanda la malaria era scomparsa ed ora negli ultimi anni riappare (1). Altrove, come in Francia, Germania, Inghilterra, il fortunato periodo dell'attenuazione della malaria è già trascorso, e gli anofeli che permangono dove non c'è più malaria ne sono forse un documento storico.

Per altre epidemie non si è ancora tentato di trovare sperimentalmente la chiave dell'enigma di così benefico evento. Per la malaria lo si può chiedere alla igiene sperimentale.

In ogni modo si apre un'altra lacuna da colmare nel campo delle nostre conoscenze epidemiologiche attuali su questa epidemia e si accenna forse qualche nuova orientazione profilattica.

(1) Questi Annali, questo volume.

Roma-Pisa, 31 dicembre 1901.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I.

Carta delle regioni palustri senza malaria in Toscana.

La malaria in Italia durante il 1901

Ricerche epidemiologiche e profilattiche

Riepilogo di A. CELLI.

La Società per gli studi della malaria ha sempre più esteso le ricerche epidemiologiche e profilattiche per tutta l'Italia. Alle stazioni di studio che nel 1900 impiantai e diressi nelle provincie di Roma, Lecce, Foggia, Ferrara, Mantova, Cremona e Milano, ne feci aggiungere nel 1901 delle altre a Sondrio, Padova, Marano Lagunare e Carlino (Udine), Bagnolo di Lonigo (Vicenza), Grezzano e Vigasio (Verona), Pisa e limitrofe regioni di Toscana, Ravenna, e, nel Mezzogiorno d'Italia, a Marcianise, (Caserta), nelle Puglie, nel Melfese (Basilicata), nelle Calabrie, a Sassari, e finalmente a Pachino, in provincia di Siracusa.

Sicchè, dall'estremo nordico della Valtellina, alla regione più calda della Sicilia, tutti i luoghi, dove più urgente, e per cause locali più interessante, si presentava lo studio della malaria, furono e sono allacciati da una rete ormai fitta di campi sperimentali, con indirizzo uniforme, ma con piena libertà di indagini (1).

Nel Veneto i professori Ficalbi e Serafini, nel Mezzogiorno il dott. Martirano, hanno più da vicino dirette e sorvegliate le ricerche

(1) I singoli lavori fatti nelle varie regioni d'Italia dai soci studiosi della Società per gli studi della malaria, sono integralmente riportati nel vol. III degli Atti della detta Società. Ad essi rimando il lettore che voglia conoscere più dettagliatamente quanto io espongo in riepilogo.

nella rispettiva sfera d'azione. Anche in Olanda il dott. Schoo ha fatto con lo stesso indirizzo un interessante studio sulla malaria.

Riferirò brevemente e in riassunto i risultati ottenuti nella passata campagna antimalarica, e li metterò in confronto con le precedenti mie ricerche epidemiologiche (1) e profilattiche (2).

PARTE I.

Epidemiologia della malaria.

L'annata epidemica del 1901 fu in generale più mite che quella dell'anno precedente.

È interessante però notare che qua e là non mancarono *eccezioni;* si ebbero cioè epidemie più gravi che nel 1900, ad es., nel Veneto (Treporti, Vancimiglio, Mezzana e limitrofi villaggi); a Trecate fra Milano e Novara; a Mantova; a sud di Grosseto; a Foggia; a Brindisi; a Cetraro (Cosenza). Anche nella campagna di Roma si ebbero isole di malaria, comparativamente, grave, come, per esempio, a Pantano di Borghese.

Spiegare le cause di queste eccezioni epidemiche non è di certo agevole ancora, come non è agevole il dire perchè viceversa la malaria fu in generale nel 1901 più mite che nell'anno precedente.

Possiamo tutto al più, e almeno in parte, pensare alla legge della cernita naturale per opera della immunità consecutiva alla malaria gravemente sofferta dalla nostra popolazione nell'anno avanti.

A) DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA DEI PARASSITI MALARICI — Nel 1901 si è confermato definitivamente che i *parassiti delle febbri estivautunnali sono diffusi anche per tutta l'Italia media e superiore.* Essendosi però, con l'epidemia in generale più mite, osservato un numero minore di febbri estivautunnali, in confronto delle terzane lievi, ho potuto studiare più da vicino e più nettamente le *note epidemiche differenziali della malaria a nord e a sud dell'Italia.*

Se come punto di partenza prendiamo la linea isotermica + 15°, che passa lungo il littorale toscano, discende lungo l'Appennino Abruzzese e risale il promontorio di Ancona, dividendo così la Penisola in due parti, si può dire che in generale al disopra della detta

(1) *L'Epidemiologia della malaria, secondo le recenti vedute biologiche.* Questi Annali, Vol. XI, 1901.
(2) *Sulla nuova profilassi della malaria.* Questi Annali, Vol. XI, 1901.

linea la malaria è più leggiera che al disotto, e quindi ne risultano, per dirla col Fortunato, *due Italie malariche,* l'una a nord e in una parte del centro, l'altra che comprende la Maremma Toscana e Romana, e l'Italia inferiore e insulare.

Nel mezzo c'è una *zona di passaggio* con differenze graduali intermedie; i due estremi nell'anno passato furono l'uno della malaria più mite a Gazzuolo (Mantova), l'altro della malaria più grave a Pachino (Siracusa).

Quali sono, dunque, le più caratteristiche note epidemiche differenziali fra la malaria più lieve e la malaria più grave?

Mettendo a confronto le carte della mortalità (fig. 1) e della morbosità (fig. 2) per malaria (1) pubblicate pei due anni vicini 1898 e 1899,

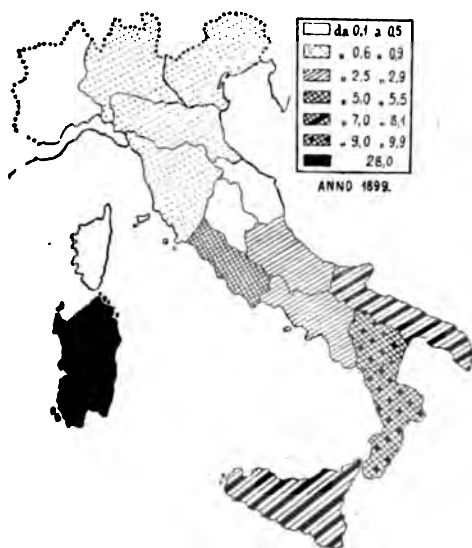


Fig. 1.



Fig. 2.

dall'Ispettorato di Sanità, si vede subito che *il numero proporzionale dei morti è assai più elevato nell'Italia inferiore,* mentre il numero dei febbricitanti in alcune regioni dell'alta Italia (Valle del Po) è così alto come in alcune provincie della bassa Italia. Si confrontino, ad esempio, nella fig. 2 le provincie di Venezia, Rovigo, Mantova, Ferrara, con quelle di Roma, Lecce, Catania.

---

(1) La carta della mortalità è calcolata in ragione di 1 : 10000 di popolazione. La carta della morbosità in ragione della percentuale fra popolazione soggetta alla malaria e quella complessiva della provincia.

Della poca mortalità per malaria nell'Italia superiore si può e si deve senza dubbio dare, come già ho sostenuto, una qualche parte di merito al chinino, che vi è largamente in uso; ma è anche certo però che i *parassiti estivautunnali hanno vario grado di virulenza, e in generale sono di virulenza più esaltata nell'Italia inferiore* (Maremma di Toscana e di Roma, Mezzogiorno, Isole). Ve ne ha senza dubbio anche una *varietà perniciosa,* e ce ne dette la prova il disgraziato caso occorso al dott. Panichi, il quale puntosi un dito con un vetro imbrattato del sangue di un pernicioso, ebbe dopo cinque giorni la febbre che si manifestò subito con sintomi assai gravi, e fu potuta vincere solo con altissime e ripetute dosi di chinino, per via ipodermica. Di simili casi di malaria primitivamente grave anche negli adulti più robusti, e ostinata o ribelle alla cura specifica comunque ed anche precocemente fatta se ne vedono qui e nell'Italia meridionale; e ne vennero segnalati anche in Sicilia (Pachino).

Invece se ne incontrano ben pochi nel versante adriatico dell'Italia media e nell'alta Italia, ove il dott. Polettini nel Veronese ha richiamato in quest'anno l'attenzione su dei casi di perniciose nei bambini, contemporaneamente affetti da gastro-enteriti, anche letali, che confondono la diagnosi; e il dott. Bettinetti nell'Ospedale Maggiore di Milano, in un anno di malaria grave come fu il 1900 su 365 casi di febbri non ha riscontrato che tre casi di perniciosa, nascosti sotto mentite forme tifoidee e meningitiche.

Nell'anno passato in tutte le stazioni di studio dell'Italia media (al disopra di Roma) e superiore non si ebbero in tutto a notare che soli 4 casi di perniciosa negli adulti.

E così nell' Italia con malaria più mite è ovvio, mentre è più raro da noi, trovare casi di febbri estivautunnali, anche primitive, che senza chinino pur non si aggravano, o si portano in piedi e permettono anche di andare a distanze per trovare il medico, ad onta che il sangue sia talvolta pieno dei rispettivi parassiti. E a questa *varietà attenuata* di parassiti estivautunnali è anche più facile un adattamento dell'organismo: onde nell'alta Italia, anche presso le risaie dove predominano i parassiti estivautunnali, è possibile vedere popolazioni non deperite per malaria come da noi e nell'Italia inferiore, dove si è formato e mantenuto per secoli il latifondo inospitale. Perchè però quell'adattamento si compia, occorre del tempo, e quindi in certi luoghi, dove di recente sono impiantate od estese le culture del riso, si possono avere, come nel Novarese, epidemie di malaria grave, ed anche perniciose.

Oltre a ciò *nell'Italia superiore è in generale più elevata la pro-*

porzione delle febbri terzane lievi rispetto a quelle estivautunnali; anzi si è avuto già un *focolaio quasi intieramente fatto da malaria mite.* Cioè, il dott. Soliani a Gazzuolo, vicino a Mantova, ha descritto una epidemia col 77 % di terzana lieve e soltanto 7 % di terzana grave, mentre contemporaneamente nella prossima città di Mantova infieriva un'epidemia col 61 % di terzana grave e 32 % di terzana lieve.

Perchè ad una così breve distanza di pochissimi chilometri i parassiti estivautunnali si diffusero a Mantova, ma non a Gazzuolo?

Esagerandosi ancora la prevalenza della terzana lieve, si arriva in Olanda ove, come il dott. Schoo ha descritto, ed io stesso ho veduto, la febbre estivautunnale, che altra volta infieriva, ora è scomparsa, mentre persiste una epidemia di terzane lievi con pochissime quartane.

Sicchè, in generale si può dire che la *terzana lieve dà l'impronta caratteristica ai luoghi ed agli anni di malaria più mite, mentre invece le febbri estivautunnali dànno l'impronta loro caratteristica agli anni e ai luoghi di malaria più grave.*

Circa alle varie forme parassitarie estivautunnali è noto che con Marchiafava avevamo descritto quella della *quotidiana vera* e poi Marchiafava e Bignami descrissero quella della *terzana grave.* Il Koch aveva poi esagerato ammettendo che il parassita estivautunnale (impropriamente da lui detto tropicale) desse luogo sempre a febbri terzane. Il dott. Caccini però studiando accuratamente da tre anni i casi di malaria che capitano a S. Spirito, ha potuto mettere insieme 63 casi di quotidiana vera, prodotta da parassiti estivautunnali, e col sangue infetto da questa varietà parassitaria, ne ha potuto riprodurre nell'uomo la stessa forma clinica quotidiana.

Sarà perciò molto interessante nelle suddette zone di malaria lieve osservare se e quante di queste forme cliniche di quotidiana vera s'incontrano e con quale grado di virulenza.

E infine si è confermato che i *parassiti della quartana sono i più scarsamente e i più uniformemente distribuiti in tutta l'Italia;* ad es.: e ne ebbe a Mantova 5,42 % e nel Melfese 6,6 %; a Marano Lagunare 10,3 % e nel Leccese 10,4 %; a Venezia 15,6 % e a Pachino 16 %; a Ferrara 19,60 % e a Trinitapoli (Foggia) 20 %.

B) Decorso delle febbri malariche recidive. — Dovunque, tranne a Pachino, si riconfermò il fatto, da me segnalato, della *recrudescenza preepidemica della terzana lieve e della quartana. La recrudescenza preepidemica delle febbri estivautunnali* si confermò che da noi manca (Dott. Dionisi a Maccarese, dott. Caccini a S. Spirito);

e così manca o è dubbia nel resto della media (Ferrara) ed Alta Italia (Mantovano, Cremasco, Veneto). Nell'Italia meridionale invece (tranne a Pachino) non solo fu riosservata, ma il dott. Martirano che fu il primo a notarla ha potuto in quest'anno anche studiare vere epidemie di recidive estivautunnali al principio del secondo semestre dell'anno.

Di queste interessanti *epidemie di recidive* di febbri estivautunnali, con molti gameti, ed anche con qualche caso di perniciosa mortale, furono le più notevoli quella di Trinitapoli, che si manifestò e si svolse rapidamente in luglio ed agosto, mentre nella vicina Foggia la malaria imperversò più gravemente e più lungamente, e quella di Cetraro nelle Calabrie che ebbe a un dipresso gli stessi caratteri, cioè insorgenza rapida nel luglio, massimo nell'agosto, caduta brusca e fine nel principio di settembre, ad onta che continuassero ad essere favorevoli le condizioni locali predisponenti all'epidemia (temperatura, ecc.). Perciò sarà molto interessante studiare ancora queste epidemie di recidive.

In generale poi si è confermato che *la recidività a intervalli anche lunghi, e non di rado a dispetto di qualsiasi cura, è una caratteristica fondamentale delle febbri malariche*; tanto che se a queste si dovesse dare un nome nuovo nessun altro sarebbe più proprio che quello di *febbri recidivanti.*

E si è pur confermato che le recidive od estivautunnali o terzanarie lievi o quartanarie dell'anno epidemico precedente, per meglio assicurare la conservazione delle specie parassitarie si riaffacciano anche quando le nuove rispettive infezioni del nuovo anno epidemico sono incominciate. Ma resta sempre a vedersi perchè ove manca ove no la recrudescenza preepidemica delle febbri estivautunnali. Può essere forse nelle zone calde, ove esiste, una causa, certo non esclusiva, del maggiore sviluppo della malaria più grave?

Lo studio però delle recidive non è completo nè perfetto per motivo delle *difficoltà nella diagnosi della malaria latente e recidivante.* A questo proposito devo soggiungere che non potendosi per siffatto scopo sperare nel criterio dell'agglutinazione (Lomonaco, Panichi, Panegrossi, ecc.) ho proceduto coi miei assistenti, Casagrandi e Carducci, alla ricerca di una eventuale emolisina malarica.

Però sull'esistenza di questa possiamo dare un giudizio non definitivo, ma solo di probabilità. Difatti il siero del sangue malarico inoculato nell'uomo sano ne fa variare di molto i globuli rossi e l'emoglobina, e perciò deve contenere qualche sostanza speciale che manca nell'uomo sano. Soltanto in alcune vacche emoglobinuriche

per malaria bovina abbiam potuto dimostrare un'emolisina; nell'uomo non ci è riuscito, forse per la poca sensibilità dei metodi d'indagine. Dovremo quindi insistere ancora intorno a un problema, così interessante per la terapia e per la profilassi, qual è quello di trovare i mezzi diagnostici della malaria latente.

C) Vita delle zanzare in rapporto con l'epidemia di malaria. — Dovunque si sono confermate le già note condizioni di vita degli anofeli. Fra l'altro si è largamente dall'ingegnere Perrone riosservato il fatto (Celli e Casagrandi, Ficalbi, Centanni e Orta, ecc.) che nelle acque sufficientemente salate le larve di anofeli non vivono. Il Vivante (1) nella laguna veneta ha ribadito questo principio, che ha avuto già, come vedremo, e più dovrà avere nell'avvenire larga applicazione nel campo della profilassi.

Quanto poi ai rapporti fra malaria e zanzare fu riconfermato che *dove c'è malaria gli anofeli non mancano, però non in tutti i luoghi la loro quantità è in proporzione diretta con la intensità dell'epidemia; anzi è spesse volte in proporzione inversa.* Ma su questo argomento un complesso di fatti molto importanti ho segnalato insieme col dott. Gasperini.

Già il Ficalbi aveva notato che gli anofeli sono in realtà così diffusi da trovarsene si può dire ovunque, ed io vedendo che l'*habitat* di questi insetti si estende perfino nelle località salubri, avevo messo in rilievo che « la distribuzione geografica degli anofeli non può coincidere con la carta della malaria, e non si può ritenere in modo troppo assoluto che siano essi sempre e senz'altro la spia della malaria ».

Ciò veniva confermato dal Nuttal, dal Sergent, da L. Pfeiffer e da altri; e frattanto noi abbiamo studiato espressamente il *paludismo ed anofelismo senza malaria.*

Abbiamo cioè il dottor Gasperini ed io trovato molto numerose ed estese in Toscana le località palustri senza propagazione di malaria ad onta e dell'arrivo di malarici dal di fuori, e dell'eventuale scoppio di qualche autoctono caso di febbre, e della presenza di numerosissimi anofeli zoologicamente identici (Ficalbi) a quelli dei luoghi più malsani.

Di queste località palustri od anofeliche, dove prima ha regnato endemica la malaria grave, se ne trovano anche in Alta Italia (Ficalbi, Romanin-Jacur) e sarà necessario farne accurata ricerca per tutta l'Italia media e superiore; nel Mezzogiorno e nelle isole non

(1) *La malaria in Venezia*, Torino, 1902.

ne vennero ancora segnalate. La causa di così interessante fenomeno non può finora certamente ed esclusivamente rintracciarsi nè in immunità organiche delle popolazioni, nè senz'altro nel maggiore uso del chinino, ovvero in bonifiche idrauliche od agrarie, e nemmeno in condizioni metereologiche. Siamo forse in presenza di un fatto che si riannoda con la intima biologia delle zanzare, e che in ogni modo non scuote, secondo noi, ma conferma la regola, cioè non infirma la nuova teoria che poggia ormai sopra un fondamento incrollabile di osservazioni etiologiche, epidemiche e profilattiche. E neppure autorizza senz'altro ad ammettere l'ipotesi del Nuttal, che qualche altro agente propagatore della malaria sia scomparso, come neppure autorizza a supporre che altri veicoli dell'epidemia siano ancora ignoti, se con tutte le sopra dette condizioni predisponenti nondimeno la malaria non c'è.

Certo è ancora inesplicabile il fatto di casi perfettamente isolati ed autoctoni di malaria; però in epidemiologia non è nuovo il caso di malattie le più tipicamente contagiose, come peste bubonica e lebbra, che quando si attenuano riduconsi a casi sparsi ed isolati senza più la possibilità di contagio.

In Olanda, rimanendo identiche le condizioni locali, la malaria era scomparsa ed ora negli ultimi anni riappare: così è avvenuto ed avviene nell'Emilia per esempio vicino a Modena e Bologna. Altrove, come in Francia, Germania e Inghilterra il fortunato periodo dell'attenuazione della malaria è già trascorso, e gli anofeli che permangono dove non c'è più malaria, ne sono forse un documento storico.

Per altre epidemie non si è ancora tentato di trovare sperimentalmente la chiave dell'enigma di così benefico evento.

Per la malaria, la si può chiedere alla zoologia sperimentale. In questo campo le ricerche sono appena iniziate. Finora, e con tutte le riserve possiamo dire, che in regioni palustri senza malaria vi hanno delle zanzare anofele che pungono pochissimo (3,5 %) l'uomo, in ogni caso lo pungono sempre meno che quelle della maremma Romana o Toscana, e delle pochissime che pungono, se ne infetta una percentuale assai scarsa (2,8 %). *Ad ogni modo il paludismo e anofelismo senza malaria aprono un'altra lacuna da colmare nel campo delle nostre conoscenze epidemiologiche attuali su questa epidemia e forse accennano a qualche nuova orientazione profilattica.*

D) Agricoltura e Malaria. — Si è cercato di studiare sempre meglio e definire i rapporti della malaria con le colture irrigue, come le risaie, e con le macerazioni di piante tessili.

Quanto alle *risaie* ne ho per primo, col Gasperini, indicate di quelle tipiche a Massarosa (Viareggio) senza affatto o quasi affatto malaria; di simili casi ce ne debbono essere anche altrove e bisognerà rintracciarne e studiarne il più accuratamente possibile. Certamente le risaie, abbiano acqua stagnante, corrente o intermittente, sono pur sempre ed ovunque un nido prediletto alle larve di anofeli; la eventuale mancanza o scarsezza di malaria nel loro territorio non dipende perciò dalle condizioni idriche della cultura, ma rientra nel mistero del paludismo ed anofelismo senza malaria. E perciò ritengo anche io col Serafini che *la questione della coltura del riso nei suoi rapporti con la malaria merita ancora ulteriori studi;* e frattanto non bisogna aver fretta di bandire sempre ed ovunque la crociata contro questa coltura.

Quanto alle *macerazioni delle piante tessili*, il Rossi a Marcianise (Caserta) cioè in una delle più vaste zone della coltivazione della canapa che si abbiano in Italia, ha confermato che *la macerazione per sè e nel tempo che dura è causa di bonifica* anzichè di malaria, perchè mortifera delle larve delle zanzare specifiche.

A questo principio che l'anno scorso fu bene assodato nel Ferrarese, farebbero *eccezione* i piccoli maceratoi della Valtellina, ove il prof. Galli-Valerio ha veduto vivere e svilupparsi larve di anofeli anche durante la macerazione.

Forse la canapa delle regioni alpine ha proprietà meno zanzaricide che quella coltivata nel Ferrarese e nel Napoletano? Forse dipende dalle condizioni delle acque dei maceri? Ad ogni modo sarà interessante proseguire le osservazioni su questo argomento, e quindi caso per caso si dovranno dettare nuove norme regolamentari sui maceratoi e sulla macerazione delle piante tessili.

Finalmente sarà necessario studiare più a fondo se e come la *cultura intensiva* può contribuire a discacciare la malaria da una località. Certo, il meccanismo di questo fenomeno deve essere diverso nelle zone di malaria mite e in quelle di malaria grave.

E) Decorso dell'epidemia di malaria e delle singole epidemie di febbri estivo-autunnali, terzana lieve e quartana. — La *estivo-autunnale* è più propriamente e per tutta l'Italia la febbre della stagione omonima, onde è questo epidemiologicamente il suo più proprio appellativo. Se, come tutto fa credere, sarà altrettanto della quotidiana vera anche fuori del Lazio, dovrà essere studiato ancora.

La *terzana lieve* ha un decorso diverso in diverse parti della penisola. Nell'alta Italia, cioè in alcune zone del Lombardo-Veneto ri-

comincia in primavera, onde le conviene l'appellativo epidemiologico di primaverile, anche perchè d'ordinario precede lo sviluppo delle febbri estivautunnali. A Roma talora si manifesta in principio di primavera; per solito precede, ma di poco, l'epidemia estivautunnale, mentre nell'Italia meridionale, o precede di poco o va di pari passo con le febbri estivautunnali; ma anche in tal caso è sempre in maggior numero, cioè ha forma prevalente nel principio della stagione delle febbri.

Se in Sicilia (Pachino) la terzana lieve posticipi alla estivautunnale, è cosa ancora da rivedere.

La *quartana* infine, è una epidemia a sè, ossia più propriamente autunnale: il che si verifica per tutta Italia, anche in provincia di Siracusa; e se talora (come a Roma nel 1901) incomincia più presto, si protrae poi assai più che le altre febbri in autunno. Il periodo d'incubazione, senza dubbio più lungo in questo tipo di febbre, non basta forse a spiegare da solo la causa di così particolare andamento epidemico.

Da quanto si è detto sulla distribuzione geografica dei parassiti malarici, e sul decorso delle rispettive epidemie risultano quei *tipi epidemici* che ho già descritti e che ora completo con le nuove osservazioni. Essi cioè sono:

1° *Tipo Sud Italia.*

S'incontra dal Lazio in giù nelle zone littoranee delle provincie meridionali e delle isole.

Le note caratteristiche sono:

Un grande predominio dei parassiti estivautunnali, e una loro virulenza generalmente più esaltata;

Manca, od è eccezionale in primavera la terzana lieve: questa precede di poco od è concomitante con la estivautunnale;

Periodo epidemico nel secondo semestre dell'anno.

Di questo tipo si hanno due varietà, cioè:

A) *Varietà a epidemia abitualmente protratta in autunno,* come ad esempio nella regione Pontina e a Pachino (Sicilia).

B) *Varietà intermedia,* come s'incontra a Marcianise, Mantova, ecc.

Questa ultima ha di caratteristico la mancanza o la grande scarsezza di malaria primaverile, il minor predominio e la minor virulenza dei parassiti estivautunuali. E s'incontra eziandio qualche tipo (come nel Vicentino e nel Ferrarese) che fa da ponte di passaggio al seguente

2° *Tipo Nord Italia.*

S'incontra in alcune zone del Lombardo-Veneto, cioè nel Cremasco, nel Milanese e forse nel Friuli.

Le note caratteristiche sono:

L'epidemia s'inizia in primavera con la terzana lieve, che rimane sempre la forma predominante;

L'anno epidemico è quindi più lungo, avendo l'intervallo di soli tre o quattro mesi, da gennaio a maggio.

Anche in questo tipo si può suddividere una *varietà nella quale manca la malaria primaverile.* Ma si ha sempre, come nel basso Veronese, nel Mantovano, nel Ferrarese, un predominio in totale e in generale di malaria mite. Questa varietà si confonde con la seconda varietà del precedente tipo, e si ha così una estesa zona che comprende una larga parte dell'Italia media e superiore, dove, le note più caratteristiche sono abbassate, e di anno in anno sono più manifeste le oscillazioni e i lievi cambiamenti di varietà e dei tipi.

3° *Tipo Nord Europa.*

S'incontra ora più nettamente in Olanda. Le note caratteristiche sono:

Sviluppo precoce dell'epidemia fin dalla primavera;

Moltissime terzane lievi;

Nessuna estivautunnale;

Scarsissime quartane.

È ancora molto difficile rischiarare e spiegare i tipi suddetti, e le loro varietà al lume della nuova teoria.

Come ho già detto altra volta, le vicende del lavoro agricolo nei luoghi di malaria, non bastano a spiegare i tipi di epidemia; e non bastano neppure i costumi delle zanzare. La climatologia è ancora troppo rudimentale per poterci dare una così difficile spiegazione.

Difatti non possiamo ancora nemmeno ben definire I RAPPORTI TRA TEMPERATURA ED EPIDEMIE DI MALARIA.

Questi rapporti si possono analizzare, sia prendendo l'epidemia nel suo complesso di casi senza distinzione di primitivi e recidivi, così come si presentano giorno per giorno, mese per mese, a un grande Ospedale, per esempio a quello di S. Spirito; oppure considerando soltanto i casi primitivi e le singole epidemie diverse di quartane, di terzane lievi e di estivautunnali.

Confrontando l'*epidemia nel suo complesso* con l'andamento della temperatura si conferma che (Santori) questa incomincia ogni anno con esattezza matematica sempre verso la medesima epoca. Nel 1878 e nel 1901 si è avuto però il fenomeno singolare di una pausa iniziale, con pochi casi, dopo lo scoppio delle primitive nuove infezioni. Orbene l'anno 1878 fu di malaria gravissima e viceversa il 1901 fu di malaria mitissima, e nè in questo nè in quell'anno si può con

tutta certezza dire che il ritardo nell'ascensione epidemica fu in relazione con la temperatura (dott. Caccini).

Quanto ai rapporti fra l'andamento della temperatura e le *singole epidemie*, è ancora difficile dire perchè la terzana lieve è nei climi più freddi la prima a cominciare, e viceversa incomincia più tardi nei climi più caldi. È anche difficile spiegare il singolare decorso, ovunque prevalentemente autunnale della quartana; ed è invece più facile trovare una correlazione con l'inizio, il decorso e l'esito dell'epidemia delle febbri estivautunnali.

Varî osservatori hanno creduto di rilevare un rapporto fra un certo ritardo che l'anno passato ci fu nello scoppio dell'epidemia e le precedenti vicende meteorologiche che decorsero in generale più fredde che nell'anno precedente; ma solo le osservazioni metodiche che dovranno continuarsi negli anni venturi potranno decidere una tale quistione.

Ovunque, ad eccezione del Vicentino, l'esito dell'epidemia fu in relazione con l'abbassamento della temperatura, come avevo rilevato qui in Roma con una lunga serie di osservazioni.

Anche I RAPPORTI FRA L'INFEZIONE EMOSPORIDICA DEGLI ANOFELI E L'EPIDEMIA DI MALARIA devono essere ancora meglio definiti.

Il dott. Martirano ha trovato che l'infezione degli anofeli cominciò di maggio nel 1900, arrivò al massimo in ottobre e si protrasse fin verso la metà di marzo: nel 1901 invece cominciò più tardi nel giugno (e più tardi cominciò anche l'epidemia) e aumentò anche ai principii di autunno, ma per breve durata.

Però, soltanto ulteriori indagini potranno decidere se da un anno epidemico all'altro si può nelle zanzare conservare il contagio per l'uomo, o se per lo meno vi si conserva quello che produce i primi casi di malaria primaverile. E ancora devono essere meglio definiti i rapporti intimi fra la quantità delle zanzare e l'intensità epidemica della malaria. Per esempio, nel 1901, a Trinitapoli (Foggia) si è avuto, secondo Martirano e Labranca, nel luglio e nell'agosto, una vera epidemia di recidive, e pur nondimeno, con tutte le zanzare e la temperatura favorevole, la malaria si spense più presto e fu molto meno grave che nella vicina Foggia. Questo fatto si deve all'immunità consecutiva alle due precedenti annate di malaria gravissima come fu a Trinitapoli? Certo, sono difficilmente spiegabili, e perciò bisogna studiare ancora queste epidemie di recidive in estate senza il successivo scoppio di una corrispondente epidemia di nuove febbri, ad onta della presenza di cause epidemiche sia dirette (semilune nel sangue, e zanzare), sia predisponenti (temperatura).

E ancora nemmeno si possono con tutta precisione spiegare per mezzo della nuova teoria le OSCILLAZIONI PERIODICHE della malaria, cioè nè le *recrudescenze pandemiche,* nè le *diminuzioni annuali,* nè la scomparsa, che si avvera talvolta anche dove lo stato locale, palustre ed anofelico, permane. Anzi, è interessante a questo proposito far notare che negli ultimissimi anni, dal 1899 in poi venne segnalata vicino alle città di Modena e di Bologna la risurrezione, o la grande recrudescenza della malaria che era scomparsa o ridotta ai minimi termini. A Modena si è creduto incolparne la formazione di una larga zona acquitrinosa (dott. Boccolari). A Bologna, secondo il prof. Brazzola, negli anni passati si era avuto qualche caso, cosiddetto sporadico, di malaria; ma nelle località ultimamente colpite non si notarono casi prima del 1899 e questi si svilupparono in quattro individui che non furono mai in luoghi malarici. D'altra parte, il prof. Emery nei dintorni di Bologna aveva sempre notato anofeli in grande abbondanza. Perchè dunque la malaria vi si era attenuata? Perchè si è così riesacerbata nel 1900-1901 in una sola località circoscritta?

Lo studio di queste *scomparse e ricomparse di malaria* incomincia ora e sarà molto interessante continuarlo.

PARTE II.

Profilassi della malaria.

La profilassi della malaria, non meno anzi forse più che d'ogni altra grande epidemia, è uno di quei problemi così complessi che non tollerano soluzioni troppo semplici. Bisogna perciò diffidare di ogni proposta che sia troppo unilaterale e pretenda attaccare da un sol fianco un nemico poderosamente fortificato da secoli nei suoi tanto estesi dominii. Così io scrissi un anno fa, e così ripeto ora dopo la campagna antimalarica del 1901. Durante la quale, non ho avuto altro di mira che di far provare, senza alcun preconcetto, i vari mezzi da me e da altri proposti e adottati dal 1899 in poi, e più specialmente il trattamento preepidemico delle febbri recidive, la profilassi medicamentosa e la profilassi meccanica.

Riferirò brevemente i risultati ottenuti con questi vari mezzi:

A) CURA PREEPIDEMICA DELLE FEBBRI RECIDIVE. — Si è confermato che pur troppo alcune *febbri sono così ostinate che recidivano ad onta*

della cura anche protratta col chinino, o solo o misto con arsenico e ferro.

Quanto alla *resistenza dei gameti verso il chinino,* gli studi del dott. Schoo, in Olanda, avrebbero dimostrato che questo rimedio specifico distrugge i gameti della terzana lieve nel sangue dei malarici. È noto d'altra parte che Gualdi, Martirano, Bastianelli e Bignami hanno dimostrato come il chinino, anche preso per lungo tempo, non rende sterili nello stomaco delle zanzare le semilune. Bisognerà quindi che sia meglio studiato il comportamento del chinino verso i gameti delle diverse specie dei parassiti malarici.

Ad ogni modo, però, si è confermato che non di rado *l'uso anche abbondantissimo del chinino non riesce ad impedire lo sviluppo e l'estensione delle epidemie di febbri.*

Il che si è dimostrato indubbiamente in Olanda (dott. Schoo), e in Italia nel Veronese, Mantovano e Ferrarese, dove si fa larghissimo uso di chinino a scopo curativo, e pur tuttavia la malaria segue il suo corso.

Ciò nondimeno, ho voluto riprovare la cura preepidemica delle febbri recidive, somministrando chinino (idroclorato) a dosi elevate e ripetute per lungo tempo dopo la guarigione apparente delle febbri (1).

Tabella I.

CURA PREEPIDEMICA DELLE RECIDIVE NEL 1901.

Luogo di esperimento	Numero degli abitanti	Ammalarono di recidive	Percentuale	Ammalarono di primitive	Percentuale	Controllo
Salone (Agro Romano) .	120	57	47. 50	15	12. 50	11 °/₀
Marano Lagunare (Udine)	1319	145	10. 90	58	4. 39	..

Simili esperienze vennero fatte a Salone, nell'Agro romano e a Marano Lagunare (Veneto): nel primo luogo il dott. Carnevali, nel secondo il dott. Bianchi, con grande zelo, hanno curato nel modo suddetto, e il meglio possibile, ogni recidivo. La tabella I ci dice che nella prima località si ebbe, pur tuttavia, il 12,50 °/₀ di febbri primitive, ma nella vicina « tenuta » di Lunghezza, senza alcun trat-

(1) Il metodo di cura consisteva nel somministrare idroclorato di chinina giornalmente agli adulti in dose di gr. 1.5 per i primi quattro giorni, gr. 1 per altri quattro giorni consecutivi, gr. 0.5 per altri quindici giorni. Agli adolescenti la metà, ai bambini la quarta parte di tali dosi.

tamento preepidemico, si ebbe in quest'anno di malaria mite, soltanto l'11 % di primitive.

A Marano Lagunare si ebbe di primitive solo il 4.39 %, ma è da notare che quest'anno in quel territorio la malaria fu pure assai lieve, relativamente all'anno anteriore.

Anche sulle ferrovie adriatiche, per iniziativa del capo dell'Ispettorato sanitario, dott. Ricchi, durante il periodo premalarico, fu rivolta ogni sollecitudine a combattere le recidive, mercè apposite cure specifiche e ricostituenti (idroclorato di chinina in tabloidi, bicloridrato per iniezioni sottocutanee, gelatine arsenicali, liquore ferroarsenicale); e ciò si fece in tutta la stagione invernale e primaverile, e in tutti coloro che da meno di due anni avevano sofferto le febbri; ma pur tuttavia, ad onta di questo trattamento preepidemico, nei tronchi senza protezione meccanica, restò pressochè uguale il numero delle giornate di lavoro perdute, tanto nel 1900, quanto nel 1901; ed anche nei tronchi protetti, ad onta della più assidua vigilanza medica e della più accurata cura, fu sempre assai alto il numero delle recidive, come si vede nella tabella seguente:

Tabella II.

NUMERO DELLE RECIDIVE NEL 1901.

	Agenti	Numero degli agenti	Ammalarono di recidive	
			Totale	Per cento
Ferrovie Adriatiche . .	Protetti completamente .	1600	446	27.87
	Protetti incompletamente	406	32	7.48
	Non protetti	651	295	45.31

Sicchè, dei non protetti affatto ammalarono di recidive il 45 %, dei completamente protetti il 27 %: la differenza dell'18 % non è certo da attribuire esclusivamente alla cura preepidemica delle recidive (che fu press'a poco uguale per tutti), ma eziandio all'avere impedito con la profilassi meccanica quelle che non si possono distinguere dalle vere recidive, e io chiamo pseudo-recidive, perchè sono infezioni nuove, cioè sopravvenute per nuove punture a quelli che furono malarici entro l'anno avanti, ma che erano guariti.

Ad ogni modo, ne risulta ancora una volta la ostinazione delle febbri a recidivare ad onta del trattamento curativo (1).

Bisognerà tuttavia ripetere negli anni venturi negli stessi luoghi che nell'anno passato e in altri luoghi di malaria grave, *sempre coi dovuti controlli*, questo trattamento preepidemico delle recidive per misurare con precisione se e quanto possiamo averne di beneficio.

Per le difficoltà che in pratica e per le tante ragioni già da me accennate s'incontrano in questa regolare e continuata chinizzazione di tutti i malarici d'un luogo, per l'impossibilità che ancora c'è di stabilire con criteri diagnostici la fine dell'infezione latente, e anche per ragioni biologiche, io sono sempre convinto essere un'esagerazione che questo trattamento sia un mezzo su di una larga pratica così infallibile per distruggere la malaria come il Koch ritiene. Credo però che sia uno dei mezzi che in certi casi, ad esempio in località ristretta e ben isolata, possono avvicinare a questo fine. Ed è perciò che propongo, e mi propongo di continuare anche nella prossima stagione malarica per questa via.

Quali vantaggi effettivi può dare nella cura delle recidive *l'unione del chinino col ferro e coll'arsenico?*

Da quando, circa 40 anni or sono, la propose il prof. Baccelli, si usa per la cura della malaria cronica, e così fu sempre usata sotto varia forma (2) e sotto vari nomi: ciò vuol dire che ha un effetto utile. Per rendersene ragione si pensi che il chinino già da solo attacca la causa del morbo, e l'arsenico e il ferro sono rimedi notoriamente ricostituenti. Ma prima di certe ultime esagerazioni industriali anche in veste scientifica, nessuno aveva mai osato affermare che una simile miscela tronca tutte infallantemente le recidive. Certo quando queste sono ostinate, diventa in pratica utile cambiare la forma del rimedio (cartine, pillole, tabloidi, ecc.) per riuscire a far prendere il chinino più a lungo; si possono anche dare i suddetti ricostituenti o uniti o distinti, in forma liquida o pillolare.

(1) Nel rivedere le bozze leggo una memoria di Gauthier (Académie des Sciences, febbraio scorso), il quale spera molto dalla cura col cacodilato di soda. Per esperienza mia (vedi pag. 277), e per quanto si è già provato a Santo Spirito, non potrei condividere queste speranze; tuttavia riproveremo ancora.

(2) Di queste miscele di chinino, arsenico e ferro, esiste in commercio un numero considerevole; tutte hanno un valore relativo, e non differiscono sostanzialmente le une dalle altre. Gl'industriali ne hanno variato il nome, la forma, il colore, l'etichetta, semplicemente a scopo commerciale. Ognuna ha avuto il suo giorno di moda; ma poi ogni medico serio si è convinto che i risultati loro si equivalgono. Bisogna quindi non voler avere dati di confronto, od essere ciechi alle altrui esperienze per esagerare la virtù di una soltanto di esse miscele, fino a proclamarla un rimedio infallibile, quando si sa che di rimedi infallibili in medicina non ne abbiamo.

Ma tuttociò è riservato al giudizio del medico, caso per caso; e quand'anche sarà fatto puntualmente nessuno si dovrà meravigliare se, ad intervalli certo volte anche lunghi, si riaffacciano delle recidive. E in conclusione, mancandoci il mezzo diagnostico certo, *qualunque cura della malaria latente non è finora che empirica; e purtroppo uno specifico sicuro contro la malaria recidivante non lo possediamo ancora.*

B) Profilassi medicamentosa. — Nelle mie ricerche sull'immunità dall'infezione malaria ho dimostrato che finora non si riesce ad ottenerla per mezzo della sieroterapia, mentre è più possibile per mezzo di medicamenti specifici antimalarici. Già numerosi esperimenti col chinino a scopo preventivo erano stati fatti dai colonizzatori dell'Africa, pei quali questo farmaco era quasi più necessario che la polvere da sparo, come pure dalle truppe americane durante la guerra di secessione, e dai medici delle Indie Olandesi e dell'Africa Orientale (1). In tutti questi esperimenti di profilassi antimalarica mediante il chinino si ottennero sempre risultati favorevoli quando se ne adoperavano *dosi terapeutiche.* Ma fino a un anno fa il 99 % del chinino che da noi si adoperava era l'indigesto solfato; e allora ne veniva la difficoltà che lo stomaco guastandosi più facilmente nei caldi mesi delle febbri non potesse a lungo tollerarlo, onde anche la proposta di somministrarlo ad intervalli di 4-10 giorni. A causa di questa difficoltà io avevo messo a prova nel 1899-900 l'etilcarbonato di chinina (euchinino) che ha il grande vantaggio di poter essere tollerato a lungo, anche mezzo grammo ogni giorno per 5 o 6 mesi di seguito; ha però lo svantaggio del prezzo troppo alto e quindi finora inaccessibile a un uso in grande.

Per questa ragione e perchè anche nel prevenire la malaria sperimentale si erano mostrati efficaci ugualmente altri chinacei, mi son proposto quest'anno far mettere in prova comparativamente i sali di chinino, più solubili o più tollerabili e più a buon mercato. Si scelsero, per quanto era possibile, fra adulti e bambini, quelli che non avevano sofferto febbri nell'anno precedente, e ciò sia per non avere di contro le recidive, certe volte così ostinate, sia per non avere in favore qualche eventuale immunità consecutiva alla malaria sofferta. E, per confronto, venne esperimentata ancora una volta l'euchinina ed eziandio una delle più notorie miscele pillolari di chinino-ferro-arsenico. La tabella III ci compendia i dati più importanti e i risultati complessivi di queste esperienze:

(1) Vedi a questo proposito: Prof. C. Binz: *Chinino come profilattico contro le febbri malariche;* Dott. C. Graeser: *Il chinino profilattico contro la febbre di malaria.* Berl. klin. Woch., 1888, n. 42.

Tabella III. — Profilassi medicamentosa.

Luogo d'esperimento	Medicamento adoperato	Durata del trattamento	Numero delle persone trattate	Ammalarono di recidive	Percentuale	Ammalarono di primitive	Percentuale	Controllo	Sperimentatori	*Osservazioni*
Corcolle e Castiglione (Agro Romano).	Bisolfato di chinino.	7 luglio – 7 agosto – 23 luglio – 5 agosto.	50	..	..	..	..	25 %	Ufficio d'Igiene di Roma.	0. 25 cgr. ogni due giorni a ½ gr. al giorno.
Id. . . .	Idroclorato di chinino.	25 settembre – 31 ottobre.	98	..	..	..	..	37 %	Id. . .	½ gr. al giorno.
Grezzano (Verona) . . .	Idroclorato di chinino.	1 luglio – 31 ottobre	35	1	2. 85	1	2. 85	66 %	Dott. Vivenza. . .	50 cgr. – 1 gr. ogni sabato.
Argenta (Ferrara). . . .	Idroclorato di chinino.	1 luglio – 15 novembre.	25	..	..	3	12. 00	28 %	Dott. Orta	1 gr. ogni 5 giorni.
Corcolle e Castiglione (Agro Romano).	Euchinino. .	25 settembre – 31 ottobre.	103	..	..	..	..	37 %	Ufficio d'Igiene di Roma.	0. 50–0. 75–1 gr. al giorno.
Carlino (Udine).	Euchinino. .	1 luglio – 31 ottobre	24	..	..	1	4. 00	40 %	Dott. Giussani. . .	25–50 cgr. al giorno.
Vigasio (Verona)	Euchinino. .	1 luglio – 31 ottobre	50	..	..	3	6. 00	66 %	Dott. Polettini . .	25–50 cgr. al giorno.
Foro Appio	Euchinino. .	5 ottobre – 10 dicembre.	42	..	..	..	..	20 %	Dott. Mariani . . .	50 cgr. al giorno.
Argenta (Ferrara). . . .	Euchinino. .	1 luglio – 15 novembre.	64	..	..	6	9. 37	31	Dott. Orta	25–50 cgr. al giorno.
Grezzano (Verona). . . .	Chinino, ferro e arsenico.	1 luglio – 31 ottobre	40	5	12. 50	7	17. 50	66 %	Dott. Vivenza. . .	½ a 2 pillole al giorno.

In conclusione *si ebbero di nuove infezioni col bisolfato od idroclorato di chinino, su 208 persone, 4 casi* (2,0 %), *coll'euchinino su 283, 10 casi* (3,5 %) *e con la miscela sopradetta su 40 persone, 5 casi* (12,5 %).

Ne risulta che il *bisolfato e idroclorato di chinina agiscono bene come profilattici:* forse anche terapeuticamente parlando è più facile prevenire che curare la malaria, probabilmente perchè gli sporozoiti resistono al chinino assai meno che i parassiti delle recidive e quelli sessuali (gameti). Sarà quindi utile provare e riprovare ancora come preventivi in anni o luoghi di malaria grave e su più vasta scala i due suddetti sali, nonchè il *bicloridrato* (1), cioè i sali di chinino più solubili, più tollerabili e più a buon mercato.

È già interessante che *l'organismo, più di quanto a priori poteasi credere si adatta a tollerarne anche ogni giorno e per lungo tempo delle dosi alte senza alcun disturbo.*

Non mancano però delle controindicazioni individuali (disturbi di stomaco, chinismo, eccezionalmente emoglobinuria).

E poi quand'anche le future esperienze confermeranno i risultati suddetti, non è a credere che la profilassi chininica possa diventare l'unica e nemmeno la più universale; perchè sarà sempre incomodo prendere ogni giorno, od ogni tanti giorni con molta e assidua regolarità, una medicina poco o nulla aggradevole, e ci saranno sempre di quelli che non vorranno o non potranno tollerarla. Bisognerebbe trovare un preparato di chinino con nessuno o con buon sapore, e digeribilissimo. Frattanto *anche questa profilassi avrà la sua sfera d'azione* in tutti i casi, quando manchino o difettino abitazioni o ricoveri, ove salvarsi dalle febbri, quando sia breve la dimora in luoghi malsani, e i lavori come quelli agricoli (raccolta di grano, riso, granturco, barbabietole) durano un tempo non lungo, ovvero, debbono essere temporaneamente fatti di notte (2).

Qui da noi p. es. durante il periodo così, per solito, micidiale, della trebbiatura del grano e della raccolta del granturco la profilassi chininica potrà e dovrà avere il suo posto.

Sarà quindi interessante determinare la dose minima necessaria: e a questo scopo già sono in corso esperimenti per conoscere con più precisione come e in che quantità si assorbono e si eliminano i sali di chinino.

---

(1) Con questo sale in dose di 25 cgr. al giorno si fece anche una eccellente profilassi in alcuni contadini del Mantovano.

(2) Nel 1900 provai utilmente nei ferrovieri addetti al servizio notturno la profilassi medicamentosa.

Anche l'*euchinino* ha seguitato a dare effetti profilattici assai favorevoli, e ha confermato il suo pregio di essere anche meglio degli altri sali di chinino tollerata a lungo (per 5-6 mesi di seguito) e ad alte dosi di $^1/_2$ - 1 gr. al giorno. Avendo però lo svantaggio del prezzo troppo alto, non potrà mai, finchè sarà così, estendersi nella pratica, e non sarà che una profilassi di lusso.

La precedente *miscela di ferro, arsenico e chinino* ha dato risultati meno favorevoli che tutti i chinacei suddetti.

Una tal prova di controllo venne fatta a Grezzano (Verona) a mia insaputa dal dott. Vivenza. Questo coscienzioso osservatore, in due gruppi della stessa popolazione ottenne (vedi Tabella III) coll'idroclorato di chinino il 2,85 % di recidive, e il 2,85 % di primitive, mentre con la detta miscela pillolare ebbe il 17,50 % di recidive, e il 12,50 % di primitive (1).

E difatti, analizzando l'azione preventiva possibile dei componenti questa miscela, nessuno, per quanto sappiamo, può sperare in tal caso e per tale scopo nel ferro. L'arsenico invece è stato molto decantato e usato come profilattico della malaria: grandi applicazioni pratiche, in vasta scala, se ne fecero per anni ed anni sui ferrovieri delle varie parti d'Italia: però dopo le prime speranze rosee, vennero le disillusioni e la profilassi arsenicale fu messa da parte. Purtuttavia nell'ultima campagna antimalarica fu riprovato, somministrandolo entro un liquore graditissimo, insieme al ferro, e nella forma organica di cacodilato di soda. Ebbene su 43 persone che fecero questa cura con vero diletto si ebbe fra recidivi e primitivi il 34,7 % di malarici, in un'annata di malaria relativamente mite come fu nel 1091.

E per dare anche una prova sperimentale ho somministrato lungamente a un individuo l'arsenico un mese prima e poi dopo l'innesto di piccola quantità di terzana lieve, e purtuttavia non sono riuscito a prevenirne lo sviluppo della febbre.

Sicchè *l'arsenico e il ferro hanno nell'infezione malarica un valore preventivo così problematico che non conviene con essi, nella calda stagione delle febbri disturbare lo stomaco* (2), *o farvi prendere un posto che con più profitto potrà essere lasciato al chinino. Questo è sinora il*

---

(1) Si ebbero anche due casi che rimasero incerti se primitivi o recidivi e che per la maggiore esattezza non vennero calcolati nelle percentuali.

(2) È noto che le cure ferruginose-arsenicali di estate si tollerano male e perciò bisogna molte volte sospenderlo.

solo rimedio specifico preventivo e curativo della malaria; e quindi è più pratico, meno dispendioso, più sincero darlo senz'altro, e nella forma più assimilabile e meno disgustosa possibile (tabloidi e confetti di bisolfato, idroclorato, bicloroidrato di chinino con involucri dolciastri o zuccherini). Di questi mezzi, propongo e mi propongo fare, nella ventura stagione delle febbri, larghe applicazioni a scopo preventivo, dove non potrà essere possibile o completa la

C) Profilassi meccanica. — È antichissimo l'uso di proteggere le case dall'ingresso di animali malefici. Secondo l'Adam (1) i Romani qualche volta mettevano avanti alle finestre una rete (*fenestrae reticulatae ne quod animal maleficum introire queat*, Varr. R.R. III, 7) o le adombravano con dei veli (*obductis velis*, Plin. Ep. VII, 21). Nei più vicini tempi gli Americani e in parte gli Olandesi hanno preso il costume di proteggere con reticelle metalliche le aperture delle case contro l'invasione degli insetti aerei, ma quest'uso così pratico e così utile non era da noi seguìto che affatto eccezionalmente (2). Fu nel 1898 che dopo i classici studî sperimentali del Ross, il Fermi attuò per mio consiglio, in palude Pontina, le prime esperienze profilattiche contro la malaria, mediante la protezione delle parti scoperte del corpo. E nella successiva primavera del 1899 sui ferrovieri delle linee di Prenestina-Cervara e di Pontegalera io feci la prima regolare e metodica profilassi meccanica completa, proteggendo cioè le case dall'ingresso delle zanzare e le parti scoperte del corpo, durante il servizio notturno, dalle punture di questi insetti. E così per la prima volta in luoghi di malaria grave, alcune famiglie poterono passare l'estate e l'autunno in eccellenti condizioni di salute, mentre nelle abitazioni limitrofe non protette a scopo di controllo, le febbri infierivano come per lo passato (3). Nel 1900 questa profilassi meccanica fu estesa da me nelle ferrovie Roma-Tivoli, Monterotondo, Pontegalera, Anzio e Terracina, e sui contadini di Cervelletta (Agro Romano); dal Grassi nella ferrovia di Albanella (Battipaglia-Reggio); dal Martirano presso la foce dell'Ofanto (Puglie), e i risultati furono dovunque brillanti. Perciò nella passata stagione delle febbri fu molto largamente estesa sulle ferrovie Adriatiche, Mediterranee.

(1) *Antichità romane* - Tomo III, pag. 213. Napoli, 1820.
(2) Secondo Grassi, nella « Tenuta » della Pescia romana.
(3) Sull'esempio della « Tenuta » della Pescia romana, il Grassi applicò le reti alla Torre di Maccarese, nella stagione in cui le febbri in campagna di Roma non incominciano; e poi nell'agosto le applicò a un casello ferroviario e vi andò con una famiglia a dormire per una settimana. Nell'autunno e per più lungo tempo fece un simile esperimento il Di Mattei in Sicilia.

Sarde, Sicule Occidentali più funestate dalle febbri; sulle guardie di finanza dei luoghi più malsani; sugli operai liberi e forzati presso le saline di Corneto; sui guardiani di strade, bonifiche, ecc. nelle provincie di Roma, Grosseto e Ravenna; sui contadini del Lazio (Bassa Valle dell'Aniene, Castel Porziano, Santa Maria di Galeria, Le Castella, Foro Appio, ecc.) e del Veronese (Grezzano), e finalmente sulle operaie in un grande stabilimento (setificio) nella bassa pianura di Milano (1).



Fig. 3.

Il metodo delle *protezioni antimalariche delle case* (v. fig. 3) fu con pochi perfezionamenti quello degli altri anni e ormai ben noto. Tutti ormai riconoscono di grande utilità un'ampia veranda esterna, a reticelle metalliche, avanti alla porta d'ingresso pel soggiorno delle persone all'aria libera ed

---

(1) Mi consta che oltre ai suindicati luoghi, fu estesa anche, per iniziativa di privati, ai contadini di altre parti del Lazio e nelle provincie di Ravenna, Foggia, Lecce, ecc.

al fresco senza offesa da parte delle zanzare; le porte d'ingresso pure a reticelle, e a chiusura spontanea automatica; una simile porta intercalata per le scale per meglio difendere la camera da letto. Per la protezione dei camini fu trovato (dott. Vivenza) più utile di qualsiasi altro mezzo l'intercalare un diaframma, cioè un telaio di ferro con reticella metallica, lungo la canna del camino, attraverso un'apertura lineare fatta nel muro della cucina o della camera superiore, così ogni 10 o 15 giorni, si estrae il diaframma per pulirlo dalla fuligine e rimetterlo a posto, senza avere il noioso incomodo del fumo.

Nelle case in campagna non si può e non si deve applicare alcuna protezione alla porta esterna d'ingresso alle stalle, ma invece a quella interna di comunicazione fra la stalla e la casa.

Dove occorra affacciarsi alle finestre sarà bene che le reticelle siano messe in modo da fare una estroflessione in basso per poter sporgervi la testa. Nella scelta delle reti sarà bene adottare quelle a fili di ferro zincato, e verniciate a fuoco con vernici resistenti all'aria marina che è la più corrosiva.

Per la chiusura automatica si potrà fare uso o del peso attaccato con una corda che scorra in anello di vetro, o di molle robuste ed economiche, ovvero di qualche artifizio del genere seguente: p. es. può essere utilizzata (ing. Belardini) la resistenza che presenta alla torsione un grosso filo di ferro, o meglio di acciaio, della lunghezza di un metro o poco più. Si piega ad angolo retto un estremo del filo di ferro per la lunghezza di 40 centim. e l'altro estremo parallelamente al primo ma per pochi centimetri. Questo terzo lato molto corto si introduce in un foro praticato nel telaio maestro della porta, al quale si fa aderire mediante grappette di ferro il lato verticale, torcendo contemporaneamente in direzione orizzontale il lato superiore che si fa scorrere entro anelli fissati nella traversa superiore dell'intelaiatura mobile. Se si vuole può applicarsi un altro filo di ferro con la branca orizzontale scorrente dentro anelli infissi nella traversa inferiore della intelaiatura. Aumentando l'angolo di torsione si può accrescere a piacere la forza che determina la chiusura della porta.

Ovvero si può (ing. Muzzi) disporre i cardini della porta in modo che ce ne siano due soli, uno in alto e l'altro in basso, e questo sia fatto in modo che il maschio sia sporgente per una lunghezza di circa 20 centim. e la femina sia arcuata all'infuori e così possa fare da molla; in questo caso però bisogna che la porta trovi in terra o nel muro un ostacolo per non aprirsi al di là di un mezzo cerchio, altrimenti si rovescia al di fuori e da sè non si richiude.

È necessario insistere su queste minute particolarità, perchè il trascurarle, certe volte, vuol dire compromettere la praticità e funzionalità delle protezioni delle case.

Per le *protezioni delle parti scoperte del corpo* dalle punture degli insetti, giovano, come è noto, dei cappelli con veli e visiera di sottilissima reticella metallica, e guanti di stoffe grevi, per non essere attraversati dal pungiglione delle zanzare. In pratica però quando il numero delle zanzare non è tale da recare incomodo e molestia, è difficile divulgare l'uso di questi mezzi di difesa della pelle, e non è facile che li possa adottare chi deve eseguire un lavoro un po' faticoso.

La comodità e l'utilità di avere nei luoghi palustri la casa libera di giorno da mosche e da altri insetti diurni, e di notte dalle zanzare, sono indiscutibili e rendono già gradevoli le protezioni indipendentemente anche dalla loro efficacia antimalarica. Non per nulla un popolo così pratico come l'Americano, per poter vivere in pace nei luoghi caldo-umidi, adotta da anni questo sistema di protezioni che (io ne sono convinto) anche da noi si estenderà sempre più.

Già nella passata stagione parecchi di loro iniziativa protessero le loro case: solo per mio consiglio più di 5000 persone furono così protette nelle varie parti d'Italia.

I risultati profilattici ottenuti sono riassunti nella Tabella IV.

I luoghi per esperimento furono scelti sempre fra quelli più notoriamente infetti e più flagellati ogni anno dalle febbri.

Il personale protetto fu quello residente negli stessi luoghi, ovvero (Guardie di finanza, Ferrovie Sicule occidentali) si prese dai luoghi sani e si portò in piena estate ed autunno nei luoghi di malaria. Nel primo caso, si fece per quanto era possibile, nel periodo preepidemico, il trattamento delle recidive, e poi a epidemia iniziata si sospese ogni trattamento curativo, eccetto a quei che ammalavano ancora di recidive o di qualche primitiva.

Si tenne conto, come di controllo, del personale dimorante senza protezione nelle stesse o nelle vicine località: i numeri di controllo della Tabella IV rappresentano la percentuale dei malati di qualsiasi febbre malarica primitiva o recidiva; dove i numeri di controllo mancano non mancarono però i controlli, ma non fu possibile precisarne con esattezza aritmetica le cifre.

Tabella IV.

PROFILASSI MECCANICA.

LUOGO d'esperimento	Numero delle persone protette	Ammalarono di recidive	Percentuale	Ammalarono di primitive	Percentuale	Controllo	*Osservazioni*
Bassa Valle dell'Aniene	354	51	14	7	1. 9	25. 37 °/₀	
Saline di Corneto. . .	71	21	29. 57	2	2. 81	26. 31 °/₀	
Bagno penale di Porto Clementino.	215	12	5. 58	5	2. 33	. .	
Castel Porziano . . .	50	4	. .	0	0. 00	. .	
Foro Appio.	120	3	2. 50	0	0. 00	20 °/₀	
Bagnuolo di Lonigo. .	7	0	0. 00	1	14. 28	80 °/₀	Protezione incompleta.
Marano Lagunaro . .	6	0	0. 00	0	0. 00	57. 14 °/₀	
Grezzano (Verona) . .	22	1	4. 54	1	4. 54	60 °/₀	
Milano (Molino Doppio)	80	4	5	2	2. 50	. .	
Argonta (Ferrara) . .	61	0	0. 00	9	14. 75	27. 3 °/₀	Id.
Ravenna	41	0	0. 00	1	2. 43	. .	
Linea Roma Vada (Pisa)	1592	359	22. 55	23	1. 50	. .	
	314	91	28. 98	26	8. 21	. .	Id.
Linea Rocchetta-Monticchio.	86	16	18. 06	8	9. 04	96 °/₀	
	14	4	28. 07	2	14. 03		Id.
Ferrovie Adriatiche. .	1600	446	27. 87	32	2	48. 23 °/₀	
	406	32	7. 48	50	12. 3		Id.
Ferrovie Sarde . . .	60	0	0. 00	0	0. 00	. .	
Ferrovia Sicula Occidentale.	66	4	6. 06	2	3. 03	60 °/₀	
Totale . . .	**5165**	**1048**	**20. 2**	**171**	**3 3**		

Sicchè *in tutte le persone protette si ebbe appena il 20 °/₀ di febbri recidive, e soltanto il 3. 3 °/₀ di primitive.*

Le protezioni però non furono sempre, per ovvie ragioni, complete, cioè di tutta la casa e delle persone. Dividerò quindi i risultati ottenuti in due categorie: quelli delle case completamente protette e quelli delle case incompletamente protette. Nelle prime abitarono 4363 persone fra adulti e bambini, nelle seconde 802 persone. I risultati furono i seguenti:

Persone protette completamente 4363: recidivi 921 (21. 1 °/₀); primitivi 83 (1. 9 °/₀).

Persone protette incompletamente 802: recidivi 127 (15. 8 °/₀); primitivi 88 (10. 9 °/₀).

E più precisamente, *nelle case completamente protette la percentuale dei malati di febbri primitive oscillò da zero a 4.54,* e arrivò eccezionalmente a 9. 04; in media fu di 1. 90 °/₀: se si pensa in quali luoghi e in mezzo a quali difficoltà, specie dove era nuova, dovette procedere la profilassi meccanica, si può senza esagerazione dire che i risultati di una così larga applicazione non potevano essere più brillanti.

Anche *nelle case incompletamente protette,* cioè con la sola protezione delle camere da dormire, si ebbero risultati molto favorevoli, con *una percentuale di casi primitivi che oscillò da 12.3 a 14.75 °/₀,* e con una media di 10. 97 °/₀. Il che dimostra ancora una volta che la protezione delle camere da letto basta già per attenuare una epidemia, prevalentemente domestica, come è la malaria; e quindi non si deve farne a meno, anche se per ragioni di servizio o di lavoro notturno non se ne può fare una migliore e più completa.

Questa profilassi meccanica serve egregiamente, come ho dimostrato fin dal 1899, non solo a limitare o impedire il contagio malarico, ma eziandio a facilitare la convalescenza della infezione recidivante. In quelli che già negli anni passati furono malarici, s'impediscono le nuove punture che di anno in anno mantengono certe volte fino alla cachessia nelle stesse persone e nelle stesse famiglie l'infezione palustre. E così tante povere famiglie dopo anni che erano travagliate dalle febbri si videro per la prima volta risorgere come a vita nuova per merito della profilassi meccanica, opportunamente associata alla cura medicamentosa.

In conclusione, dovunque vi sia una casa o un ricovero, la profilassi meccanica può rendere segnalati servigi, e, quando si può attuare, è finora, tutto ben considerato, la più pratica, o la meno incomoda. Essa, oltre al benefizio contro le febbri, ne porta con sè tanti altri per chi

debba dimorare in luoghi palustri; e questo insieme di benefizii ci spiega la rapida diffusione che ha avuto già in poco tempo questo nuovo mezzo protettivo delle case.

Mi consta che nell'anno prossimo si estenderà sempre più sulle ferrovie, sulle caserme di finanza, sulle case di campagna. . . . , e più ancora si dovrà estendere quando sarà venuta la persuasione che per proteggere almeno le camere da letto, che sono, come ho detto, le più pericolose per prendere le febbri, si può ricorrere a mezzi molto più economici delle reticelle metalliche, come, ad esempio, le reticelle o i veli di filo di cotone; così io feci nelle mie prime esperienze del 1899, e così ancora consiglio di fare, più che sia possibile, nelle case dei poveri.

D) Distruzione delle zanzare. — Ha dato, come era da prevedere, eccellenti risultati l'acqua del mare, attorno alla salina di Corneto, e sul littorale di Pachino.

L'ing. Streri per questo scopo di lavare e disinfettare canali di acqua dolce con acqua del mare ha ideato una pompa molto pratica ed efficace, che si può mandare o col vento o con una piccola macchina a vapore. Essendo poi indiscutibile ormai che nelle acque sufficientemente salate le larve di zanzare non vivono, fu adottato questo principio, che l'acqua marina è larvicida, per risanare alcuni stagni littoranei, o per risparmiare, come in provincia di Lecce, le spese di bonifica di stagni o laghi già di per sè innocui perchè salati.

Qualche utile uso ha avuto, per es., attorno alle mura di Bologna, anche il larvicid. Ciò non vuol dire però che la distruzione delle zanzare, quale mezzo profilattico contro la malaria, possa divenire in uso e riuscir utile tranne che in pochi e speciali casi.

Invece le

E) Bonifiche idrauliche (1) hanno sempre avuto, e sempre avranno una importanza capitale sulla profilassi della malaria. Tuttavia, non è da credere che sieno esse dovunque e sempre il mezzo per risanare completamente e senz'altro un esteso territorio. Per questo scopo, l'ideale igienico di una bonifica idraulica sarebbe o che si potesse dalla superficie della terra togliere l'acqua, o che in ogni caso l'acqua che rimane si potesse mettere tutta e sempre in un qualsiasi movimento.

Queste condizioni però non è sempre possibile di poterle attuare, massime nei larghi e lunghi bacini paludosi, nelle basse e vaste

(1) Vedi anche le mie tre lezioni su *Malaria e Bonifiche*. Estratto del giornale « Il Policlinico ». Milano, 1901.

pianure littoranee, dalle quali togliere del tutto l'acqua, o metterla sempre in movimento non è facile, e assai spesso non è completamente possibile. Perciò *non è a credere che ogni sistema di bonifica possa riuscire non solo idraulicamente, ma anche igienicamente perfetto.* Ad esempio, nelle *bonifiche per scolo naturale* i canali secondari e terziari, in generale i piccoli colatori, dove l'acqua si muove punto o poco, anche perchè trattenuta da vegetazione palustre, permangono assai spesso come tanti acquitrini lineari, e così continuano ad essere nidi di zanzare e fonti di malaria.

Anche le *bonifiche per esaurimento meccanico* hanno degli effetti igienici o limitati o addirittura nulli, perchè d'ordinario larve di zanzare mancano o difettano soltanto nei canali più profondi in vicinanza delle macchine idrovore, ma in tutto il resto dei canali se ne possono trovare dovunque, specialmente lungo le sponde. Certo, se si volesse chiedere alle macchine idrovore il massimo rendimento igienico, si dovrebbe fare obbligo di esaurire completamente le acque superficiali, ma allora si urtano gli interessi dell'agricoltura che finiscono di prevalere su quelli della salute, e le spese di esercizio diventano troppo rilevanti.

Le *bonifiche per colmate,* durante i lunghi anni in cui si compiono possono, come è noto, produrre anche una recrudescenza di malaria, e in definitiva possono riuscire igienicamente perfette, solo a patto che si abbia la massima cura nella sistemazione e manutenzione dei canali che rimangono.

Un mezzo molte volte complementare, altre volte principale per il risanamento di un territorio malarico sono i *drenaggi.*

Queste sono opere veramente deleterie per la vita delle larve di zanzare, e perciò in Inghilterra, in Francia e in Ungheria, riuscirono a bonificare vaste zone di malaria; però pur troppo anch'esse molte volte non si possono eseguire, e quindi in conclusione non c'è alcun mezzo o sistema di bonifica idraulica che senz'altro porti infallibilmente con sè la bonificazione igienica delle località. Si aggiunga che tante regioni, dove domina il paludismo e l'anofelismo, si sono risanate senza alcun merito delle bonifiche.

Vero è, che *dove finisce la bonifica idraulica, comincia quella agraria; ma d'altra parte non è infrequente il caso che l'agricoltore, ad esempio, con le colture irrigue comprometta invece di completare l'opera risanatrice dell'ingegnere* (1).

---

(1) Vedi anche la mia conferenza: *Agricoltura e malaria.* « Boll. della Società degli agricoltori ». Roma, 1901.

Ed è perciò che *dove non arrivano nè l'ingegnere e nè l'agricoltore deve arrivare il medico igienista*, con quei sistemi profilattici dei quali, come abbiamo veduto, può egli disporre, cioè: *cura dei malarici nel periodo preepidemico e meglio ancora in tutto l'anno; profilassi medicamentosa e meccanica nel periodo epidemico.*

Occorre infine tutta una LEGISLAZIONE SANITARIA CONTRO LA MALARIA.

Di leggi simili ha dato un primo esempio il nostro Parlamento con la legge 23 dicembre 1900 per l'esercizio di Stato del chinino, da rivendersi puro e a mite prezzo in ogni angolo d'Italia, e con la legge 2 novembre 1901 sulla cura col chinino gratuito per gli operai, a spese dei padroni, e sulla obbligatoria difesa dalla penetrazione delle zanzare malarifere in tutte le abitazioni degli operai. che nei luoghi malarici lavorano direttamente o indirettamente per conto dello Stato.

Occorrono però altre leggi sanitarie che regolino il lavoro in luoghi di malaria; e già per intanto si è ottenuto che le nuove e razionali norme profilattiche siano tassativamente richieste in ogni capitolato speciale d'appalto dei lavori pubblici nei luoghi di malaria.

Occorre ancora una legge che ai proprietari di terre in località malariche faccia obbligo e dia ogni facilitazione di costruire ove manchino o non siano sufficienti le case di abitazione pei contadini a dimora stabile e i locali di ricovero per quelli a dimora temporanea.

Necessita infine che i nuovi principii di profilassi contro la malaria siano ben noti ad ognuno ed entrino nei costumi del popolo, senza di che nessuna profilassi giova, e molto meno può giovare quella medica antimalarica, la quale molto esige dalla previdenza e dall'azione individuale.

Sicchè, per concludere, *il problema di liberare dalla malaria il nostro paese è molto più arduo che a qualche semplicista non sembra. Esso è già molto difficile nell'Italia con malaria più mite, e sarà senza dubbio più difficile ancora nell'Italia con malaria più grave, e perciò come la prima volta che feci il programma completo della profilassi antimalarica, così anche oggi dopo 3 anni di studi così intensi e di così felici, applicazioni pratiche ripeto ancora:* UNUM FACERE ET ALTERUM NON OMITTERE.

Contributo allo studio della malaria in Sicilia[1]

dei

dott. A. INSINNA e ing. dott. E. MANZELLA

assistente presso l'istituto d'igiene assistente presso la scuola d'applicazione

della R. Università di Palermo.

I.

Abbiamo iniziato quest'anno (2) uno studio sulla malaria in Sicilia, incominciando a visitare la regione Nord dell'Isola, lungo quel tratto della linea ferroviaria orientale che con uno sviluppo di circa 48 km. si estende dalla stazione di *Palermo* alla fermata di *Bivio-Fiume Torto*. Questa regione è tipica per quanto riguarda la fisionomia e la distribuzione della malaria, lungo le strade ferroviarie siciliane: in essa esistono difatti zone in cui i casi di malaria sono rari, altre in cui sono frequenti e mancano invece quelle in cui si lamenta una forte percentuale di casi di febbre e di giorni di lavoro perduto, tale da trovar riscontro nelle sconfortanti statistiche malariche delle Reti Adriatica e Mediterranea; in questo tratto per giunta

(1) Questo lavoro è comparso nel vol. 3° degli *Atti della Società ital. per gli studi sulla malaria*, senza le correzioni eseguite dagli AA. sulle bozze di stampa. Si ripubblica pertanto in questi *Annali* il testo esatto, riveduto e corretto dagli AA.

(2) Sin dallo scorso anno avevamo richiesto all'on. Amministrazione delle S. F. S. delle facilitazioni nei viaggi, esponendo il nostro desiderio d'intraprendere una serie di escursioni lungo le regioni malariche attraversate dalle linee ferroviarie, allo scopo di raccogliere dati e rilievi per la epidemiologia e la profilassi della malaria in Sicilia.

Però solo quest'anno, e grazie all'interessamento dell'ill.mo sig. Rettore della nostra Università, prof. A. Venturi e dell'ill.mo comm. prof. Pintacuda, potemmo avere un biglietto di viaggio gratuito per il tratto *Palermo-Roccapalumba*. Sentiamo qui il dovere di ringraziare i sullodati professori e di ringraziare anche il Principe di Scalea, Presidente d'Amministrazione della Rete Sicula, e il sig. comm. Mauceri, Direttore tecnico della Rete stessa, i quali agevolarono il nostro compito, concedendoci la facoltà di richiedere, nei limiti consentiti dai Regolamenti, l'opera del personale ferroviario. All'ill.mo prof. Manfredi, che è stato anima e mente nel promuovere e incoraggiare le nostre ricerche, esterniamo i sensi della nostra più viva gratitudine.

la malaria è dovuta a piccoli ma numerosi focolai, sparsi sopra una grande superficie.

Abbiamo voluto fin da principio mettere in rilievo i due fattori essenziali del problema malarico: *intensità* ed *estensione*, per mostrare come in Sicilia il problema si presenta sotto un aspetto tutto particolare e conseguentemente richieda, per la soluzione, di un accurato studio *locale*.

II.

Nelle nostre escursioni, cominciate in luglio, furono oggetto di speciale rilievo i compluvi e le vallate in cui scorrono i corsi d'acqua, i quali vennero ispezionati a valle della ferrovia sino alla loro foce e a monte per uno o due chilometri; solo i due fiumi *Oreto* e *Torto*, che segnano i limiti della regione da noi studiata, furono esplorati per parecchi chilometri.

Il fiume *Oreto* s'incontra a circa 1 chilometro E. di Palermo; al di là di questo corso, nella vasta insenatura che va sino a Capo Mongerbino, si stendono i magnifici giardini della Conca d'Oro, che ricoprono il tufo quaternario, sotto al quale le argille eoceniche raccolgono potenti falde freatiche, utilizzate per la irrigazione.

A chilometri 1.500 E. di *Ficarazzi* s'incontra il torrente omonimo: quindi la curva del golfo si accentua e si protende in mare con le montagne dolomitiche di Montalfano e d'Aspra; nella vasta pianura compresa tra queste montagne e i paesi di Bagheria e Santa Flavia, si scoprono le potenti formazioni di tufo marino quaternario, tanto adoperato come pietra da costruzione.

Nella nuova insenatura che segue al Mongerbino, tra il tufo quaternario della valle, intercalato spesso di arenarie, puddinghe, marne e argille plioceniche, si aprono le foci dei torrenti *Spucches*, *Cefalà*, *Casteldaccia*, *Perriera* e *Cuba* o *Mastro-mario*, i quali si presentano generalmente di poca importanza.

A circa 1 chilometro prima del paese di Altavilla, si trova il torrente *Milicia* o *S. Giovanni;* dopo Altavilla, tra i due rami a V, dalla ossatura triassica, costituiti dai Monti di Calamigna, scorre il torrente *S. Michele*.

Al di là del piccolo paese di S. Nicola, fino a Trabia, s'incontrano i torrenti *Cardella*, *Mortella*, *Chiaretta*, *Curreri*, *S. Oliva* e *Giardinazzo* coi loro letti incassati tra le argille eoceniche.

Da Trabia a Termini-Imerese è ampiamente rappresentata la serie liasica e giurese con scisti silicei, calcari a crinoidi, brecce e puddinghe... A circa 1 chilometro prima di Termini-Imerese scorre il fiume *S. Leonardo;* dopo Termini scorrono i torrenti *Barratina*, *Trepietre* o *S. Cosimo* e *Calcasacco.* I detti corsi hanno la parte a valle del loro letto scavata fra le argille scagliose eoceniche, che ricolmano l'ampia depressione compresa tra i Monti di Rosamarina e il S. Calogero.

A circa 6 chilometri da Termini-Imerese, apre il suo cono di deiezione il fiume *Torto*, che nell'ultimo tratto attraversa i terreni eocenici, in cui prevalgono le solite argille.

III.

Prima di occuparci, con maggior dettaglio dei corsi più importanti in rapporto al problema malarico, crediamo utile di precisare il carattere dei fiumi e dei torrenti di questa regione, avuto riguardo al loro speciale regime.

Nel linguaggio comune noi chiamiamo

FIUMI : l'*Oreto*, il *S. Leonardo*, il *Torto*;

TORRENTI : il *Ficarazzi*, il *Perriera*, il *Cuba*, il *Milicia*, il *S. Michele;*

VALLONI : lo *Spucches*, il *Cefalà*, il *Casteldaccia*, il *Cardella*, il *Mortella*, il *Chiacetta*, il *Curreri*, il *S. Oliva*, il *Trepietre*, il *Calcasacco;*

LAVINAI i numerosi solchi di breve lunghezza e di nessuna importanza idrografica, che vanno al mare, quasi sempre, senza nome; o confluiscono nei valloni, nei torrenti e nei fiumi; o ne determinano, a monte, i bacini di raccolta.

I fiumi sopraricordati non soddisfano però alla principale condizione di tali corsi, di convogliare, cioè, un rilevante volume d'acqua anche nel periodo di magra. In estate il letto dei nostri fiumi è, nella sua maggior parte, asciutto, se si eccettua l'*Oreto* che conserva anche in questa stagione le sue acque, per quanto ridotte di volume.

I fiumi propriamente detti scorrono inoltre in ampie vallate, con pendenze miti e vanno sottoposti a piene prolungate; i nostri fiumi sono invece, in buon tratto del loro corso, incassati, hanno forti pendenze, sono soggetti a piene brevi e subitanee.

I tre corsi d'acqua hanno insomma tutti i caratteri dei *fiumi torrentizi* e tra questi andrebbero classificati (1).

A determinare la natura torrentizia di questi corsi contribuisce essenzialmente la costituzione geologica dei nostri terreni che si prestano assai bene ad essere scavati e corrosi. Questa causa, unita alle azioni atmosferiche, è quella che regola la forma dei nostri compluvi e delle nostre valli.

(1) In Sicilia si dà ai fiumi torrentizi anche il nome di *fiumare*, che risponde abbastanza bene al carattere di questi corsi.

Spesso il regime torrentizio è imposto dalla vicinanza al mare della catena dei monti da cui traggono origine; ciò si verifica specialmente per molti dei corsi che sfociano nel Tirreno.

Un altro fattore secondario ma immediato ai due precedenti, va ricercato nel disboscamento delle nostre pendici. Senza che ci fermassimo a rilevare i danni che il disboscamento arreca al regime delle acque latenti e superficiali, non sapremmo attribuire ad altra causa l'impoverimento e il disordine dell'*Oreto,* il quale fu un tempo un notevole e ben regolato corso d'acqua.

La natura torrentizia dei nostri fiumi si manifesta meglio nel *S. Leonardo* e nel *Torto*. Questi scavano a monte e trasportano una enorme quantità di materiale che vengono a depositare a valle, dando al cono di dejezione l'aspetto caratteristico d'una desolante rovina. Le torbide deposte alla foce danno poi luogo a scanni litoranei poco importanti e comuni, del resto, a tutti i fiumi che immettono in un mare interno, a piccole maree, come è il Tirreno.

I torrenti meritano precisamente questo nome: hanno per sviluppo e per portata importanza minore dei fiumi torrentizi; sono alimentati dalle piovane, sicchè subiscono piene impetuose e temporanee in inverno, rimangono asciutti in estate, ad eccezione di qualcuno che presenta anche d'estate delle limitate raccolte d'acqua. Queste ultime hanno per noi grande importanza giacchè, in determinate condizioni, costituiscono focolai d'infezione malarica. Esse traggono generalmente origine da sorgenti denudate dall'alveo stesso del corso (1).

I corsi brevi, ad alveo ristretto si dicono finalmente, con nome proprio, valloni o burroni.

***

L'*Oreto* ha il suo bacino di raccolta nelle montagne di S. Martino, di Renda, di Campanaro, di Parco (territorio di Monreale). Nella parte alta la sua valle è limitata dai terreni secondari, tra cui domina la massa dolomitica di M. Renda; poi il fiume attraversa le argille scagliose dell'Eocene medio, che in qualche punto si alternano con le arenarie o sostengono il calcare travertinoso di origine lacustre; nell'ultimo tratto scorre tra i terreni quaternari, lasciando a destra i villaggi di Bon Riposo, Villagrazia e Falsomiele: a sinistra quelli di Porcelli, S. Spirito, Guadagna, Donna Nela.

L'Oreto fu anticamente un fiume ricco di acque. Queste venivano deviate sia per muovere i numerosi mulini riveraschi, sia per irrigare le fertili campagne vicine. Ma trascurato per lunghi anni e disperse a poco a poco le acque montane che lo alimentavano, si ridusse un misero fiumicello, le cui acque vaganti, in estate, nel suo alveo disordinato, non tardarono a trasformarlo in temuto focolare d'infezione malarica. Il completo abbandono di quasi tutti i mulini, impotenti a lottare con la concorrenza delle macchine a vapore e i minori introiti dei giardini, tormentati dalla crisi agrumaria, aggravarono la funesta influenza del fiume estendendola a tutti i villaggi vicini e ai rioni limitrofi della città di Palermo. Cosicchè tutta l'estesa zona compresa nel raggio d'influenza dell'Oreto, andò a poco a poco spopolandosi, e nel risveglio edile che animò Palermo in quest'ultimo trentennio fu non solo trascurata,

(1) Queste raccolte d'acqua si dicono nelle nostre campagne: *nache*, per la loro forma a culla.

ma sfuggita senz'altro come località malarica. Quest'abbandono era del resto ben giustificato dall'esperienza, poichè dalle statistiche degli anni 1894 e 1895 risultava che nella detta zona si lamentavano in media 1300 casi di febbre malarica all'anno, con una mortalità del 5 %.

Dal 1893, ad iniziativa e sotto la direzione del sig. comm. Mario Benso, si praticano nell'Oreto, durante la stagione estiva, delle opere intese a bonificarlo. Il programma di *bonifica temporanea* svolto ogni anno nel nostro maggior fiume, è stato così formulato dallo stesso comm. Benso:

« 1° Scavare un piccolo letto largo da 50 a 100 c/m, diligentemente « arginato per tutto il corso del fiume nel territorio appartenente al Muni« cipio di Palermo. E ciò perchè le poche acque scorressero unite e rapide, « evitando il dilagamento nell'ampio letto e la formazione d'esiziali paludi.

« 2° Ripulire i canali dei mulini (*saje*) dal fango e dagl'intoppi di qual« siasi natura, che potessero rallentare lo scorrere delle acque.

« 3° Svellere le alghe, le piante acquatiche in generale ed i loro rizomi.

« 4° Sradicare dalle sponde i canneti e le altre piante le cui radici ve« nissero a marcire nell'acqua.

« 5° Stabilire una rigorosa sorveglianza nelle deviazioni delle acque del « fiume o dei canali, onde evitare gl'impaludamenti.

« 6° Ispezionare gli stabili della zona, onde costatare la loro igienicità « e provvedere entro 24h per qualunque inconveniente che fosse causa di « perturbamento per l'igiene pubblica ».

Tutte queste misure sono applicate lungo tutto il tratto del fiume che attraversa il territorio di Palermo, cioè per una lunghezza di circa 12km.

In una escursione, nella quale ci fu guida cortese lo stesso comm. Benso, abbiamo avuto mezzo di ammirare la grande diligenza posta nell'esecuzione di queste opere di bonifica. Del resto, le condizioni sanitarie di questa zona, dal 1896 in poi migliorarono rapidamente ed oggi esse non sono quasi più influenzate dai casi di malaria locale.

Lo stesso non può dirsi pei tratti a monte del fiume, attraversanti i territori di Monreale e di Parco. Quelle regioni non sono comprese in questa prima parte del nostro studio; però esse sono riconosciute come apportatrici di malaria e ritenute come causa dell'infezione palustre che tuttavia incombe sul villaggio di Villagrazia.

Il *Ficarazzi* si forma coi numerosi valloni che scendono dal Bosco di Ficuzza e di Cappelliero; corre dapprima incassato tra le argille scagliose eoceniche col nome di F. di *Scanzano*, lasciando a E. Marineo; quindi col nome di *T. Ficarazzi* lascia a W. Misilmeri, continuando il suo corso tra le dette argille, sostenenti qua e là delle masse molto contorte di marne a fucoidi; presso la casa Bassano denuda il calcare triassico, in contrada Cannita attraversa i calcari del lias, che sulla sponda sinistra restano coperti dalle solite argille scagliose e finalmente, attraverso il quaternario del litorale, sfocia in mare a circa kilometri 1. 500 a valle del paese omonimo.

Le acque di questo torrente si riducono, in estate, ad un piccolo ruscello che trae origine da alcune sorgenti pullulanti nello stesso alveo. A spese del comune di Ficarazzi queste acque vengono, in estate, inalveate per un tratto di circa 3km; ma la manutenzione del canale non presenta nessuna seria garenzia e le acque, mal trattenute, deviano in molti punti e vengono

a costituire numerosi pantanelli tra le pietre dell'alveo. Questi piccoli ristagni sono popolati da un numero sterminato di larve di *anopheles*, delle quali si fece una buona raccolta per trasportarle in laboratorio. Quivi si lasciarono vivere entro campane di vetro contenenti buona acqua potabile, quotidianamente rinnovata. La maggior parte raggiunsero lo stadio di ninfa ed allora furono isolatamente adagiate entro larghe provette, su striscie di carta da filtro inumidite. Quasi tutte raggiunsero lo stadio d'immagine e sotto questa forma furono identificati come *anopheles superpictus*.

I caratteri di queste zanzare sono quelli assegnati dal Grassi, salvo alcune differenze che potemmo rilevare con l'aiuto del prof. T. Destefani, al quale porgiamo qui i nostri ringraziamenti.

Le differenze degne di nota sono:

a) *peluzzi cenerini nel torace*; b) *ali jaline*; c) *i tratti intercalati tra le macchie lineari del margine esterno delle ali sono anch'essi jalini*; d) *la frangia delle ali è di color cenerino, alcuni peli sono di colore più chiaro*; e) *i femori sono in toto bruni e la loro estremità distale è orlata di bianco*; f) *gli anelli dei palpi, in numero di tre nella femina e di due nel maschio, sono di color bianco e non bianco giallicci*, come ha notato il Grassi nei suoi esemplari.

Non ci fu possibile, ad onta di minuziose ricerche, di catturare zanzare *anopheles* nelle abitazioni rurali riverasche. Però la malaria persiste, per quanto attenuata dall'imperfetta bonifica, nel territorio attraversato dal fiume e specialmente nel comune di Ficarazzi. Dobbiamo infine notare che le acque nelle quali le uova delle *anopheles* trovavano le condizioni necessarie e sufficienti per il loro sviluppo, presentavano una durezza di 38 gradi tedeschi, abbondanti cloruri, scarsi solfati.

Il *Casteldaccia* trae la sua origine in contrada Quattro Finaiti, nel versante SE. del M. Porcara e si svolge per circa kilometri 6. 500, lasciando a SE. il paese omonimo.

Questo torrente è ritenuto malarigeno nel tratto di corso che lambisce la collina su cui è fabbricato il paese. Vi abbiamo difatti rinvenuto numerosi pantanelli formati dall'acqua di una sorgente che scaturisce nel letto del torrente, in contrada *Seranedda*, nei quali si trovarono larve di *anopheles superpictus*. L'acqua presentava una durezza di 50 gradi, un quantitativo di cloro di 0,29 °/₀₀; solfati in discreta quantità.

Il *T. Milicia* o *S. Giovanni* si forma dalla confluenza di due valloni, uno che proviene da contrada Savarita a SE. di Baucina, l'altro da contrada Ogliastro a SW. di Marineo. Dal Pizzo di Corvo comincia il Milicia propriamente detto, il quale corre ancora per altri 8^{km} e si getta in mare a circa 1^{km} NW. da Altavilla-Milicia. Questo torrente è ritenuto malarico nei tratti a monte da noi non esplorati e sano nell'ultimo tratto del suo corso. Qui abbiamo trovato delle raccolte d'acqua: una poco estesa tra il ponte S. Giovanni e il ponte ferroviario; un'altra più abbondante alla sua foce, separata dal mare da una barra. La prima, avente una durezza di 64°, cloro 0,40 $^{\circ}/_{00}$, abbondanti solfati, presentò, nelle diverse visite fatte durante la stagione estiva, soltanto delle larve di *culex;* la seconda, avente la durezza di 106°, cloro 3,00 $^{\circ}/_{00}$, solfati abbondanti e che evidentemente risultava del miscuglio di acque dolci con acqua di mare, non conteneva larve di *culicidi*.

I torrenti che seguono sono completamente asciutti in estate, se si eccettua il *Curreri* e il *S. Oliva*, dove in estate s'immettono gli scoli delle campagne vicine irrigate dalle acque della diga di Trabia. Ma questi scoli, per la forte pendenza dei due torrenti, corrono con una certa velocità al mare, senza produrre ristagni permanenti. La ricerca di larve è stata per questi corsi affatto negativa, come negative furono le numerose indagini fatte sui luoghi per stabilire la evenienza di casi di malaria locale.

Il *S. Leonardo* ha le sue origini dai monti di Prizzi, Corleone e Mezzoiuso, tra le argille scagliose dell'eocene. Corre prima con i nomi di F. di *Centosalme* e di F. *Vicari* o *S. Giuseppe*. Dopo circa 16^{km} di corso assume il nome di S. Leonardo, attraversa le argille scagliose, le marne eoceniche e poi le dolomie del trias per sfociare in mare tra il quaternario e i grossi conglomerati della spiaggia.

Nel tratto a monte dell'antico ponte in muratura, si trovano qua e là, in estate, dei piccoli ristagni d'acqua prodotti da sorgenti locali. L'acqua presentava la durezza media di 29°, un quantitativo di cloro del 0,105 $^{o}/_{oo}$, scarsi solfati, molti *culex* in simbiosi con molti *anopheles*. In una conca scavata tra le marne della riva sinistra trovammo una rilevante formazione d'acqua apparentemente stagna, della durezza di 40°, 30, con 0,124 $^{o}/_{oo}$ di cloro, con scarsi solfati, in cui non vivevano che larve di *culex*.

Lo stesso rilievo fu fatto nelle acque marnose a valle del detto ponte, dove la durezza si mantenne sempre superiore a 40°. Nello specchio d'acqua, sottostante al ponte della ferrovia, non si videro mai larve di *culicidi*, ma il cloro fu determinato sempre nella quantità di gr. 16 circa $^{o}/_{oo}$, cioè di poco minore a quella contenuta dall'acqua marina.

Le notizie attinte sui luoghi sono pienamente giustificate dalle nostre constatazioni: mentre l'ultimo tratto del S. Leonardo, a valle del ponte di pietra, è ritenuto sano, la parte a monte è riconosciuta come apportatrice di malaria.

Il *Barratina* lambisce la parte E. della città di Termini-Imerese. Nell'ultimo tratto del suo corso s'immettono gli scoli luridi della parte orientale della città e precisamente del rione della Conceria, ma vi si scaricano anche le acque di scolo delle campagne rivierasche per mezzo di feritoie lasciate negli argini in muratura. Questo torrente è ritenuto generalmente come malarigeno. Nell'epoca in cui fu da noi visitato, il suo alveo era asciutto; notammo solo, al di sotto del ponte canale del detto rione, un rigagnolo di acque putrescenti che, nei punti in cui ristagnano, raccolgono numerose larve di *culex*. Nelle diverse volte che visitammo questo corso, non ci fu dato di rinvenire raccolte di acque chiare, e quindi di stabilire se il Barratina può, in certi casi, accogliere le uova delle *anopheles* e diventare malarico. Noi però siamo più disposti a ritenere, non ostante l'opinione dei sanitari locali, che la fama di malarico provenga a questo torrente dalle cattive esalazioni che le sue acque luride vi emanano.

Il *Torto* ha il suo bacino di raccolta in contrada Fontana Murata, circondario di Termini-Imerese, a una quota media di metri 450 sul livello del mare. I valloni che lo formano sono quelli di *La Gulfa*, *Marcato Bianco* a destra; *Gargia*, *Racalmici*, *Resuvita* a sinistra, i quali alla lor volta sono alimentati

da numerosi solchi o lavinai. Questo bacino è compreso nelle argille e le arenarie del miocene, tra le quali, come a Marcato Bianco e a Racalmici, spuntano le argille scagliose e i calcari bianchi dell'eocene.

Dopo un percorso, da E. a W. di circa 8^{km}, il fiume piega a N., svolgendo il suo letto tra le argille eoceniche; dopo Roccapalumba entra nei terreni miocenici, tra i quali sono da notare le formazioni di argille sabbiose, gessose e salifere, eminentemente franose, che in certi punti costituiscono anche il letto del torrente. Presso Sciara rientra fra le argille scagliose variegate dell'eocene medio, lascia a sinistra la vasta zona dei calcari liasici e giuresi che poggiano sulla massa triassica del vicino Monte S. Calogero, e, continuando tra le argille eoceniche, apre, a valle del rilevato ferroviario, la sua foce, dopo un corso sinuosissimo di circa 60^{km}, lungo il quale riceve, tanto a destra che a sinistra, numerosi valloni e lavinai affluenti.

La regione di questo fiume attraversata dalla ferrovia è annoverata tra le più malariche dell'Isola; la Società ferroviaria la classifica tra le zone a *malaria fortissima.*

Percorrendo in estate, da monte a valle, questo fiume la prima impressione che si riceve è quella della sua aridità, resa più triste dalla enorme quantità di massi alluvionali sparsi disordinatamente nel suo letto. Però, di tanto in tanto, si rinvengono delle piccole sorgenti, le cui acque restano facilmente impigliate tra le pietre e vi ristagnano, dando luogo a pozzanghere e acquitrini.

Sin dalle nostre prime escursioni ci fu dato di trovare, solo nelle piccole raccolte d'acqua a valle del ponte ferroviario, numerose larve di *anopheles* che, sviluppate in laboratorio, presentarono tutti i caratteri della varietà *claviger*. Le acque davano una durezza variabile dai 66° ai 68°, un quantitativo di cloro non mai inferiore a 0,22 °/$_{oo}$ e solfati abbondanti.

Nello stesso tempo catturammo numerose zanzare *claviger* dentro il casello del deviatore addetto al *Bivio*, il quale casello era munito di reticelle alle finestre, ma non aveva nessuna protezione alla porta (1). È degno di nota il fatto che in quest'epoca appunto si ammalava di febbre malarica il figlio del deviatore, ragazzo dodicenne, il quale era prima vissuto in località sane e non era stato mai colpito dall'infezione palustre. Questo caso di *accesso primitivo* di malaria, da noi accertato, ci autorizza a ritenere *che la stagione malarica, nella regione del Torto, comincia fin dai primi giorni di luglio.* Nelle escursioni successive non mancarono mai nelle indicate pozzanghere le larve di *anopheles*, generalmente di *claviger*, qualche volta in simbiosi con *superpictus* e con *culex*. Rimontando il fiume, al di là del ponte in ferro e sino alla stazione di *Çanso*, in diversi punti ci fu dato di trovare analoghe formazioni d'acqua, dove però rilevammo costantemente solo *anoph. superpictus*. Nei caselli soprastanti non ci fu mai possibile di catturare una sola zanzara *anopheles*, per quanto minuziose fossero state le nostre ricerche. Questo rilievo conferma l'opinione emessa già dal Grassi che, cioè, *le anoph. superpictus non si lasciano vedere di giorno e compaiono soltanto nelle tarde ore della notte.*

Tornammo a visitare il casello di *Bivio* varie volte; ma dalla metà di agosto in poi non vi trovammo più zanzare nell'interno; contemporaneamente

(1) Verso la fine di settembre fu apposto a questa porta un gabbiotto protettore.

notammo la prevalenza delle larve di *superpictus* su quelle *claviger* nelle pozzanghere del tratto di fiume sottostante. Durante la stagione malarica non vi furono altri ammalati nella famiglia del deviatore.

A valle del rilevato ferroviario il terreno, di natura argilloso, degrada lentamente verso il mare, fino a restare coperto dalle sabbie della spiaggia. Questo terreno è coltivato a frumento e a vigneto in alcune zone; in altre, che sono le più numerose, prospera la coltura erbacea ed arbustiva, con ficaie, canneti, liquorizia, ecc. Percorrendolo per la sua lunghezza, che è di circa 1^{km}, potemmo constatare che alla sua superficie geme l'acqua della falda sotterranea, la quale in diversi punti dà origine a stagni e pantani naturali e in altri viene intercettata dai dreni scavati dai coltivatori, dreni che immettono in un canale collettore, parallelo alla spiaggia e diretto verso il vicino fiume. Nonostante le minute e ripetute nostre ricerche non fu possibile trovare in dette acque larve di *anopheles;* in un fosso, nascosto da un lussureggiante canneto rinvenimmo numerosissime larve e qualche ninfa di *culex*. A spiegare il fatto, valse l'esame delle acque. Queste avevano una composizione chimica poco diversa invero dalle acque malarigene del Torto, anzi la durezza era solo di 47°, il cloro fu determinato in gr. 0,20 °/₀₀, i solfati erano abbondanti; però alla superficie delle acque ferme si trovò sempre un *vellutello* speculare di ocra che, distrutto da noi, tornava, dopo alcuni giorni, a ricomporsi. A questo *vellutello* è già stato attribuita da altri (1) la stessa virtù larvicida delle sostanze che impediscono il libero contatto dell'aria con l'acqua, e qui nella palude nascosta del Torto, se ne ha ancora un'altra splendida conferma.

In quanto alle acque dei dreni, esse non hanno mai un volume rilevante, nè i canali che le convogliano hanno carattere di stabilità. I contadini durante la stagione estiva modificano continuamente il loro fondo, riuscendo certo inconsciamente a mantenerli inadatti allo sviluppo delle uova di *anopheles*.

Eppure, su questa zona, che dà l'illusione di una grande formazione malarica e la cui bonifica, se fosse necessaria, richiederebbe ingenti spese, non ostante riesca incompatibile con la vita ovulo-ninfea delle *anopheles*, incombe pur troppo l'influenza funesta dei piccoli ristagni rinvenuti nel letto del vicino fiume Torto.

IV.

Da quanto abbiamo fin qui esposto risulterebbe che *i focolai di malaria, nella regione descritta, risiedono nel letto dei fiumi torrentizi che l'attraversano e debbono attribuirsi ai ristagni numerosi, ma singolarmente poco estesi, che le acque di sorgente determinano in questi letti.*

Questo rilievo è comune alla maggior parte dei terreni malarici di Sicilia, quando si eccettuano le poche formazioni, imponenti per la loro entità, che lo Stato ha finito (2) o si è impegnato di boni-

(1) Celli. *Malaria e bonifiche*, 1901, pag. 9.
(2) *Paludi di Mondello,* in Provincia di Palermo.

ficare (1). Quasi tutti i fiumi di quest'Isola sono difatti a regime torrentizio, a corso tortuoso e disordinato, poveri o sprovvisti d'acqua nella stagione estiva.

Fermandoci un momento a considerare la regione del *Torto,* che può scegliersi come *tipo* delle regioni malarigene più comuni in Sicilia, un altro rilievo ci par degno di nota. Quella grande estensione di territorio è bensì tenuto a coltura, per quanto vi domini il latifondo, ma è generalmente disabitato. In essa convergono, nelle epoche di lavoro, e quindi specialmente in estate, i contadini dei vicini paesi, e vi pernottano all'aria libera o in rozze capanne, durante la semina ed il raccolto, contraendo quasi sempre la malaria. Cosicchè *nella maggior parte dei comuni interni dell'Isola*, dove le statistiche denunziano numerosi i casi di morbilità e mortalità per malaria, *non si hanno attacchi di malaria autoctona, ma l'infezione vi è importata dai contadini.*

Però non mancano in Sicilia i comuni sottoposti direttamente all'influenza delle dette formazioni malarigene; nella regione da noi esplorata abbiamo già citato gli esempi di Palermo e delle sue borgate a SW, ora risanate con la bonifica estiva dell'Oreto, e quelli di Ficarazzi e di Casteldaccia. In ogni caso, volendo stabilire un rapporto tra l'entità delle formazioni malarigene e la distribuzione della malaria in Sicilia, dobbiamo venire a questa conclusione importante: che qui prevolgano di molto, sulle grandi, le piccole formazioni, a causa delle quali la malaria è da noi così diffusa da potersi affermare, senza esagerazione, che *tutta la Sicilia è malarica.* Cosicchè *esiste nel problema malarico dell'Isola nostra una grande sproporzione tra cause ed effetti, sproporzione che dà, come abbiamo già detto in principio, uno speciale carattere a questo problema.*

V.

Coi nuovi indirizzi seguiti dalla epidemiologia e dalla profilassi malarica, si può disporre oggi di numerosi ed efficaci mezzi per combattere questo flagello, il quale è anche in Sicilia, come per alcune altre regioni d'Italia, un colosso dai piedi di creta.

---

(1) In Provincia di Siracusa: *Lago di Lentini* e *pantani di Lentini e Celsari; laghi di Salsa Camerina e Pantano; stagni litoranei detti di Vendicari* o *Rovetto; pianura di Bucachemi o valle del F. Eloro e del suo affluente Bandeci* In Provincia di Catania: *Piana di Catania; terreni paludosi detti Gurno* e *Anzonetto.* In Provincia di Trapani: *Terreni paludosi e paludi detti Margi di Xitta, gorgo di Marausa e salina grande; paludi di Nespuliddu: margi di Milo e margi di Birgi; paludi di Capo Fito e Sicomo.*

In queste nostre prime escursioni, abbiamo avuto occasione di apprezzare gli sforzi che si fanno lungo i tratti di linea infestati dalla malaria, per proteggere il personale ferroviario fisso dal morbo. Dal casello km. 39.440 fino a Roccapalumba sono state applicate le reticelle metalliche alle finestre e, nelle stazioni più malariche, anche i gabbiotti alle porte d'ingresso. La sorveglianza di queste opere è affidata al personale tecnico zelantissimo che trova nella fiducia del personale fisso, il più sicuro fattore di successo. Ci piace anche constatare che, in questa nobile gara contro la malaria, non è restata estranea nè la Direzione, nè la presidenza della Società e noi abbiamo incontrato spesso lungo le linee malariché il solerte comm. Mauceri e il benemerito principe di Scalea, premurosi di rendersi conto del funzionamento di queste misure. Degno complemento all'opera di questi Egregi, fu quella prestata dal personale sanitario e dal ch.mo prof. Manfredi, il quale volle dare il prezioso contributo della sua competenza nelle difficoltà che si presentavano in pratica.

Noi non abbiamo avuto finora le statistiche precise di questa campagna malarica, per potere dire se i risultati ottenuti siano stati o non soddisfacenti. Epperò, senza fermarci sul valore degli appunti che contro questo mezzo di profilassi si son venuti facendo, tra i quali quello che si riferisce alla limitazione della libertà personale, in Sicilia ancora più grave per ragioni di abitudini e di clima, è certo che *se pur esso ci difende del tutto dalla malaria, non elimina però la causa del morbo*, specialmente quando questa causa è mantenuta attiva dalla nomade popolazione agricola. *Ora tutte le volte che il risanamento della terra è tecnicamente ed economicamente possibile, resta sempre la* BONIFICA *il migliore mezzo di difesa, come quello che risolve radicalmente il problema.*

Alle misure di protezione, e a tutte le misure profilattiche in genere, noi crediamo debba darsi un valore relativo; esse sono da adottarsi solo in quelle zone (e non sono poche, nè poco estese), nelle quali difficoltà tecniche o economiche si oppongono alla bonifica del terreno.

Nella regione da noi visitata la bonifica non presenta nessuna delle difficoltà a cui si va incontro nel risanare le grandi formazioni malariche.

Abbiamo già citato il caso del F. Oreto, risanato con un'opera semplicissima, che non grava sul bilancio del comune di Palermo se non per una spesa di poco superiore alle lire 5000 annue (1), di-

(1) Relazione all'ill.mo sig. Sindaco fatta dal comm. M. Benso Celestri, 1898, pag. 21.

remo ora brevemente quello che, a nostro avviso, si potrebbe praticare negli altri fiumi malarigeni.

VI.

I corsi descritti in questo lavoro si possono raggruppare in tre categorie.

1ª Corsi i cui letti sono completamente asciutti in estate.

2ª Corsi che conservano, anche in estate, una corrente d'acqua.

3ª Corsi i cui letti presentano, in estate, delle sparse polle di acqua sorgente.

Del primo gruppo non abbiamo ragione di occuparci. Del secondo gruppo, il cui tipo è il *F. Oreto*, abbiamo già detto qualche cosa delle misure da adottare. L'inalveazione artificiale del corso è, in questo caso, un sistema di bonifica di facile attuazione e di sicuro risultato quando sia applicato con la debita cura, come si è fatto per l'Oreto.

Il carattere particolare di queste opere di bonifica è la loro *provvisorietà* e la loro *limitazione* a quei tratti di fiumi che hanno influenza sopra centri abitati, giacchè non è a parlare di opere di *sistemazione permanente,* dato il regime di questi corsi e la scarsa importanza agricola e industriale che essi hanno; nè sarebbe sempre conveniente *estendere* questo tipo di bonifica a tutto il corso del fiume. Per limitarci all'Oreto, si farebbe opera civile a risanare anche i tratti a monte, che rientrano nella giurisdizione territoriale di Monreale e Parco.

Queste bonifiche dovrebbero poi essere accompagnate dal rimboschimento delle pendici che alimentano i corsi.

Il rimboschimento è l'arma più efficace e duratura, osserva il De Bauve, *contro il disordine dei fiumi torrentizi*. L'esperienza ha provato che corsi a regime torrentizio, come quelli di cui ci occupiamo in questo secondo gruppo, sono stati trasformati in corsi regolati, a portata poco variabile, dopo che i boschi hanno coperto i loro bacini di raccolta e che qualcuno di essi è ritornato disordinato e funesto allorquando le popolazioni imprudenti hanno di nuovo distrutto le foreste protettrici.

Ma quelli che particolarmente devono essere considerati sono i corsi del terzo gruppo, che in Sicilia sono i più numerosi e i più funesti. La bonifica di questi corsi si riduce ad impedire le manifestazioni di acque sorgenti nei loro letti, e conseguentemente i ristagni di esse tra il materiale d'alluvione.

Le opere relative rientrano tutte tra quelle intese a prosciugare la superficie del terreno e che si dicono di *drenaggio*. Quando si tratta di manifestazioni isolate, come p. es., nel *T. Casteldaccia*, riesce facile di disperdere, di deviare o di accecare la sorgente d'acqua, scavando un pozzo o costruendo un cunicolo; quando le manifestazioni sono diverse e vicine, allora si comprende che bisogna prima, con uno studio accurato dei luoghi, determinare e la natura geologica del sottosuolo, la direzione (1) e l'entità della falda acquifera denudata dal letto del corso. In ogni caso, dato l'esiguo volume di queste falde di cui noi abbiamo descritto gli affioramenti, riescirà certo non difficile d'intercettarle a monte e di disperderle (2) o di raccoglierle e custodirle (3).

Non grandi lavori di bonifica richiedono dunque questi terreni, ma poche opere di drenaggio, le quali mentre risanerebbero estese plaghe tormentate dalla malaria, potrebbero anche riuscire di grande utilità all'agricoltura, in queste contrade scarsissime d'acqua irrigua. Noi affermiamo, con piena convinzione, che queste opere che possono chiamarsi di *piccola bonifica,* adottate con giusto criterio, distruggerebbero la malaria dei nostri fiumi, e tanto più facilmente quanto più stretto va inteso il legame tra il problema malarico con quello agricolo. È da sperar quindi che il concetto della *piccola bonifica,* entrato oramai nella profilassi di Stato con la legge 2 novembre 1901, sia senza indugio e largamente applicato in Sicilia, come altrove, ovunque ci siano acquitrini, pozzanghere e piccoli ristagni. Lo stesso provvedimento propone il Celli per le *marrane* e *marranelle* della campagna romana nel suo recentissimo opuscolo « *Malaria e Bonifiche* ».

Sinoggi ad onta che sui vantaggi della piccola bonifica avesse da tempo tanto insistito il Tommasi-Crudeli, sia perchè di immediata ed economica applicazione, sia perchè di esito non dubbio, gli sforzi del Governo si sono volti invece ad eliminare e correggere solo le grandi formazioni malarigene, senza poi trarne in ogni caso quei

(1) Questo studio vien facilitato dal fatto, generalmente ammesso, che le falde acquifere si trovano inclinate verso i corsi d'acqua superficiali, in modo che il talweg di questi rappresenta anche il talweg delle acque del sottosuolo.

(2) Ciò sarà possibile tutte le volte che s'incontra a poca profondità uno strato permeabile, il cui livello idrostatico sia più basso di quello della falda acquifera da intercettare (pozzi assorbenti).

(3) Naturalmente non possiamo qui accennare ai dettagli da seguirsi pel drenaggio, giacchè essi variano in pratica, caso per caso.

lieti risultati che si avea diritto di attendere da tanto denaro profuso. E devesi al giusto richiamo fatto dal Baccelli sulla necessità ed efficacia della piccola bonifica, se questa finalmente ha potuto acquistare un posto di cittadinanza nella profilassi di Stato, essendosi contemplata in un articolo della legge citata 2 novembre 1901.

Il Baccelli nella seduta 12 marzo 1901, quando si discusse alla Camera la proposta di detta legge (d'iniziativa dei deputati Celli, De Asarta, Franchetti, Fortunato e Perla, e intesa solo a migliorare le condizioni del lavoratore di terre malariche), rilevò come *le piccole raccolte di acqua, mentre costituiscono di fatto un guaio non minore delle grandi paludi, possono d'altra parte con facile disciplina risanarsi a tutto ed immediato vantaggio degli agricoltori* (1).

Dicembre, 1901.

---

(1) Nel suo discorso alla Camera, Baccelli dice tra l'altro: « Tutti sanno la differenza che passa tra le grandi arterie del nostro organismo ed i vasi capillari, ma sanno pure che il più importante lavoro fisiologico è compiuto da questi ultimi. Ebbene questi minori ristagni, per la diffusione della malaria, rappresentano purtroppo i capillari del danno e quindi debbono essere eliminati con ogni mezzo, tanto più che non è difficile, nè costoso (vedi *Policlinico* 1901, M., Vol. VIII, pag. 252).

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA

Sull'azione locale e generale degli estratti dei corpi bacterici

per il dott. A. CARNEVALI.

Fino dalle prime esperienze di Koch sull'estrazione delle proteine per mezzo della glicerina o dell'acqua distillata, s'intravide l'importanza che lo studio di questi estratti dei corpi bacterici poteva avere nel campo della patologia.

Il Nencki, il Brieger ed il Buchner furono i primi ad iniziare questo studio. Infatti il Nencki (1), già nel 1884 aveva isolata una micoproteina dal *bacillo di Friedländer;* il Buchner (2) aveva ricercato sostanze analoghe in un grande numero di bacterii, estraendole da questi colla bollitura e precipitandole dalle soluzioni acquose con acido acetico. Egli studiò in modo particolare il *bacillo di Friedländer* ed il *piocianeo,* e potè stabilire le proprietà caratteristiche delle sostanze estratte da tali germi. Vide, cioè, che esse si sciolgono in acqua, in soda diluita ed in acidi un po' concentrati; che non coagulano coll'ebollizione che non precipitano se trattate con bicloruro di mercurio e col sale di cucina, che precipitano invece con altri sali, con l'acido tannico, con alcool; che dànno la reazione del biureto, della xantoproteina, quella di Millon e di Adamchiewich. Inoltre queste sostanze contengono fosforo, mancano nei liquidi colturali, cioè al di fuori dei corpi bacterici, hanno la proprietà di produrre fenomeni flogistici, e quella di dare dei corpi composti coi colori anilinici. L'A. indicò anche queste sostanze come simili alle caseine vegetali, cioè ai paranucleo-proteidi.

Lo studio ulteriore di questi corpi ha poi valso a definirne meglio la costituzione, tanto che oggi al nome generico di proteine si è potuto sostituire quello di nucleo-proteidi, di nucleine, di acidi nucleinici.

I lavori più completi a questo proposito furono fatti sul *bacillo della tubercolosi,* ma prima di questi vanno citate le ricerche istituite dal Nen-

(1) Ber. d. d. chem. Ges. Bd. 17, 1884, S. 2065.
(2) Klin. Wochenschr. Bd. 90, S. 673, n. S, 1084.

cki (1), dal Galeotti (2) e da altri. Il Nencki potò separare dal corpo di questo germe una sostanza solubile in alcali, precipitabile con acidi diluiti, contenente solfo, e capace di dare la reazione del biureto. Il Galeotti, a sua volta, potè separare delle sostanze simili dal *bacillus ranicidius* dell'Ernst.

Il Ruppel, studiando la costituzione del bacterio della morva, riuscì a dimostrare nel precipitato con acido acetico dei bacteri digeriti in acqua, la presenza di sostanze solubili in alcali diluiti, precipitabili con acidi, contenenti fosforo, ecc., e le ascrisse alla classe dei paranucleo-proteidi. Inoltre egli dimostrò nel *bacillo del tetano* la presenza di sostanze scomponibili dall'acido solforico in acido nucleinico ed in una tipica protamina.

Ma le più interessanti osservazioni sono quelle, come già dissi, che si riferiscono al *b. della tubercolosi* (3). Incominciò il Weyl (4) ad isolare una toxomucina per mezzo di soluzioni diluite di potassa; ma il Ruppel (5) studiando questa toxomucina, fu indotto a crederla non già una mucina, ma un miscuglio di nucleo-proteidi e di nucleo-protamine. Infatti l'A., estraendo i bacteri della tubercolosi disseccati con soluzione di soda all'1 per cento, potè ottenere un liquido nel quale si notava la presenza di sostanze classificabili fra le mucilaggini vegetali, e di altre sostanze che non hanno rapporto colle prime. Facendo poi degli estratti acquosi dei bacilli essiccati e triturati col metodo indicato dal Koch, l'A. potè dimostrare nell'estratto acquoso la presenza di una sostanza contenente fosforo, precipitabile con acido acetico, scindibile in protamina ed acido nucleinico (nucleo-protamina), e di un'altra sostanza essa pure della serie degli acidi nucleinici, ma di altra origine, il cosidetto acido tubercolo-nucleinico o tubercolinico, il quale in soluzione acquosa si sdoppia in acido tubercolo-timinico ed in basi nucleiniche.

L'acido tubercolinico, secondo gli studi del Kitashima (6), avrebbe tutte le proprietà della tubercolina di Koch, e sarebbe il primo prodotto chimicamente ben caratterizzato che abbia le proprietà di un veleno bacterico specifico.

Il De-Giaxa (7), pure estraendo i bacilli della tubercolosi seccati e triturati, riusciva a dimostrare in essi la presenza di nucleo-proteidi e di nucleine, ed in base a dati sperimentali attribuiva a queste nucleine la parte precipua nella formazione della lesione specifica (il tubercolo).

Altri studi fatti sul contenuto della cellula bacterica, anche precedentemente a quelli ora citati, hanno dimostrato che si possono estrarre per mezzo di alcali delle sostanze che hanno tutti i caratteri dei nucleo-proteidi.

Il Lustig ed il Galeotti (8) estrassero infatti dal *bacterium pestis* un nucleo-proteide, capace di immunizzare gli animali verso l'infezione pestosa, e di produrre dei sieri specifici. E più tardi lo stesso Galeotti, studiando i

---

(1) Loc. cit.
(2) Zeithschr. f. phisiol. Chem. Bd. 26, 1898, S. 46.
(3) Casagrandi. *I veleni del bacillo della tubercolosi.* Guerra alla tubercolosi, n. 9 e 10, Catania, 1901.
(4) Deut. med. Woch., 1890, S. 256.
(5) Zeitschr. f. phisiol. Chemie. Bd. 26, 1898, S. 218.
(6) Cit. da Ruppel.
(7) Questi Annali, 1899.
(8) Lo Sperimentale, Firenze, 1898.

nucleo-proteidi di vari germi, riuscì a stabilire che essi, come i nucleo-proteidi degli organismi superiori, hanno la proprietà di coagulare il sangue, di produrre flogosi, necrosi, ecc., dei tessuti.

Da ciò si comprende come lo studio dei diversi estratti bacterici sia stato in questi ultimi tempi oggetto di studio da parte di molti autori, e come i risultati di tanti lavori sull'argomento rendano ormai giustificata la sostituzione di queste denominazioni: *estratti nucleo-proteidici, nucleinici, nucleo-protaminici* alla denominazione generica di *estratti proteinici*.

Anche in questo Istituto sono state fatte delle ricerche sul proposito. Il Barone (1) trovò in diverso *streptotrix* dei nucleo-proteidi e delle nucleine incapaci di produrre dei fatti locali.

Il Grenga (2), facendo degli estratti col metodo di Kock, ricavò dal *b. radiciforme*, dal *b. mesenterico*, dal *proteo volgare*, dal *b. del carbonchio*, da *quello del tifo*, del *coli*, dello *stafilococco piogeno aureo*, e dallo *streptococco* dei materiali dotati di intensa azione locale e marantica.

Il maggior grado di azione locale (flogogena) venne esplicato dalle proteine dello stafilococco, dello streptococco, del tifo e del carbonchio; il minore, dalla proteina del b. mesenterico. Il maggiore grado di azione marantica fu dato dalla proteina del tifo. L'A. concluse che non soltanto la proteina del b. di Koch, e quella del bacillo della morva dànno azione flogogena e marantica, ma anche quelle di altri germi manifestano azioni analoghe.

L'Ortona (3) ripete alcune delle esperienze fatte dal Grenga, studiando specialmente l'azione coagulante sul sangue degli estratti proteinici del *b. coli*, del *b. tiphi*, dello *stafilococco aureo*, e del *mesentericus vulgatus*.

Egli constatò che questi estratti hanno azione coagulante più o meno intensa, più o meno rapida, secondo la quantità di materiale inoculato, qualunque sia la vena in cui si iniettino.

In questo Istituto, del resto, erano state fatte precedentemente delle analoghe ricerche anche dal Casagrandi e dal Valagussa. Il Casagrandi (4) studiò i residuati degli estratti dei corpi dei *blastomiceti*, e li trovò dotati di azione locale e marantica, non di azione coagulante sul sangue. Il Valagussa (5) studiò gli estratti alcalini

(1) Policlinico, sez. pratica, 1899.
(2) Tesi di laurea, Roma, 1900.
(3) Quesito di laurea, Roma, 1901.
(4) *L'azione patogena dei blastomiceti*. Questi Annali, 1900.
(5) *La sierodiagnosi nel tifo*. Questi Annali, 1900.

dei corpi del *bacillo di Eberth* (estratti plasmo-proteinici dell'A.), e li trovò capaci di azione locale e generale.

Anch'io ho studiato gli estratti dalle cellule bacteriche di diversi germi, sperimentando sugli animali l'azione di questi estratti acquosi, alcalini, ed i loro residuati.

A tal uopo seminavo su grandi piastre di agar glicerinato delle emulsioni in soluzione fisiologica sterilizzata di patine in agar di diversi germi, e ponevo le piastre in termostato. Ottenuto uno sviluppo rigoglioso di materiale, per mezzo di una spatola sterilizzata, raccoglievo le patine sviluppate e le distendevo in capsule piatte di porcellana che ponevo poi in un essiccatore ad acido solforico, agevolando l'essiccamento col vuoto e con modico calore (30°-35°) (1).

Trituravo finamente in un mortaio levigatissimo le patine essiccate, fino a che all'esame microscopico osservavo molti germi spezzettati. Mi pareva inutile il prolungare ulteriormente quest'operazione, perchè è certo che con tale mezzo non sarei riuscito ad ottenere la frammentazione di tutti i germi, specialmente perchè le patine in genere sono igroscopiche. Pestavo poi la polvere così ottenuta, e la mettevo a digerire in acqua nella proporzione di 1 gm. di patina a 50 centimetri cubi di acqua distillata e sterilizzata. Tale digestione veniva fatta in Erlenmeyer a larga base, che venivano chiusi con tappi di gomma sterilizzata, e forniti di una tubulatura laterale, per mezzo della quale si faceva il vuoto in ciascun recipiente. Di tanto in tanto agitavo il materiale, e dopo 2-3-5 giorni lo centrifugavo con potente centrifuga elettrica. Raccoglievo in adatto recipiente sterilizzato il liquido risultante e lo suddividevo in tante porzioni, delle quali una veniva usata per l'esperimento tale quale l'avevo ricavata dalla centrifugazione; le altre porzioni venivano sottoposte a questi trattamenti: *a*) trattamento con etere; *b*) trattamento con carbonato sodico al 0.5 per cento, o con soda all'1 per cento, e successiva precipitazione con acido acetico, o con miscela etereo-alcoolica.

Studiai l'azione dei prodotti (ottenuti nel modo dianzi accennato) di germi appartenenti a questi diversi gruppi: a) *sarcine* (s. albida; s. lutea); b) *cocchi* (staf., piog., au.; micrococcus candicans; m. aurantiacus); c) *bacterii* (bact. coli comune; b. coli varietas dissenteriae, b. prodigiosum; b. tiphi); d) *bacilli* (b. anthracis; b. mesentericus, b. micoydes; b. megaterium; b. pseudo-antrace); e) *streptotrix* (strept. alba); f) pseudo tubercolare del latte.

(1) Serve bene allo scopo un apparecchio ideato dal Casagrandi (*Tecnica della concentrazione dei liquidi in bacteriologia*. Questi Annali, 1900).

I.

Azione locale.

Sarcina albida e s. lutea.

a) L'estratto acquoso di cinque grammi di patina seccata e triturata di queste sarcine produce una tumefazione nel sottocutaneo degli animali, tumefazione che presto si riassorbe.

b) L'estratto al carbonato sodico produce edema ed infiltrazione leucocitaria, ma non fenomeni di necrosi.

c) Il residuo dall'estratto etereo dà luogo ad infiltrazioni parvicellulari con contenuto purisimile, senza fatti necrotici.

Stafilococco aureo.

a) L'estratto acquoso di tre grammi di patina secca, triturata, macerata in soluzione di cloruro sodico, e centrifugati, inoculati nel tessuto sottocutaneo di cavie, produce dopo 2-3 giorni tumefazione locale, e più tardi un'area necrotica alla periferia della tumefazione, il cui contenuto è costituito da materiale purulento, che, riassorbendosi, lascia un nodulo.

b) L'estratto al carbonato sodico 0. 25 per cento di un grammo di patina, inoculato nel tessuto sottocutaneo di cavie, produce già al secondo giorno una tumefazione piuttosto estesa, a contenuto puriforme: la pelle si necrotizza con rapidità, e si forma un'escara che cade e lascia una soluzione di continuo che guarisce per seconda intenzione.

c) Dopo l'estrazione con etere di 3 grammi di patina rimane un materiale (poco solubile in acqua, abbastanza solubile in soluzioni alcaline) che inoculato nelle cavie produce un focolaio ascessuale, cui segue la necrosi, l'escara e la soluzione di continuo, come per l'inoculazione degli estratti alcalini.

Micrococcus candicans e *m. aurantiacus.*

a) L'estratto acquoso del centrifugato di due grammi di patina secca e triturata, inoculato nel tessuto sottocutaneo di cavie, produce una tumefazione che si riassorbe senza lasciar traccie.

Concentrando 10 c. c. di soluzione a bassa temperatura, e ripetendo l'inoculazione, si ha leggiera infiltrazione sottocutanea persistente, ma nessun fatto flogistico, od esito in necrosi.

b) L'estratto al carbonato sodico di patine triturate tanto del m. candicans, quanto dell'aurantiacus, produce nel tessuto sottocutaneo delle cavie, edema che man mano scompare, lasciando un indurimento nel punto d'inoculazione.

c). Il residuo dell'estratto etereo delle patine triturate di questo germe produce infiltrazioni parvicellulari poco estese, con successiva area necrotica, ma non così marcata come nel caso dello stafilococco.

Bacterium coli.

a) L' inoculazione dell'estratto acquoso delle patine di questo germe produce una vasta tumefazione con infiltrazione leucocitaria intensa; talora

in qualche animale si ha vasto scollamento delle parti circostanti al punto d'inoculazione, ed edema più o meno marcato; soltanto in un caso su cinque dei osservati si notò necrosi cutanea.

b) L'estratto al carbonato sodico produce fenomeni necrotici più intensi: inoculato anche in piccola quantità nel tessuto sottocutaneo delle cavie e dei conigli determina rapida infiltrazione leucocitaria con formazione di ascesso, e successiva, rapida necrosi della pelle che lo ricopre: in alcuni casi si notano vasti scollamenti nella pelle circostante al punto d'innesto, con emorragie circoscritte.

c) Il residuato dell'estratto etereo delle patine di coli manifesta anche in grado maggiore queste proprietà necrotizzanti, specialmente se si esperimenta con patine di *coli varietas dissenteriae*.

Bacterium prodigiosum.

a) L'estratto acquoso delle patine seccate, determina nelle cavie e nei conigli una lieve infiltrazione sottocutanea che presto si riassorbe.

b) L'estratto al carbonato sodico è alquanto più irritante, e produce delle tumefazioni a contenuto purisimile che lentamente si riassorbono.

c) Il residuo dell'estratto etereo conserva quest'azione.

Bacterium tiphi.

a) L'estratto acquoso delle patine seccate non produce notevoli fatti locali: ciò forse per la difficoltà di triturare bene questi germi.

b) L'estratto al carbonato sodico invece, specialmente se si fa prolungare la macerazione, produce flogosi intensa, tanto da formare ascessi, ed anche scollamenti della pelle, senza necrosi.

c) Il residuo dell'estratto etereo, inoculato nel tessuto sottocutaneo, viene difficilmente riassorbito; si notano dei focolai ascessuali, ma non dei fenomeni di necrosi.

Bacillus anthracis.

a) L'estratto acquoso dei bacilli del carbonchio seccati e triturati, inoculato nel tessuto sottocutaneo dei conigli e delle cavie, non produce fenomeni locali.

b) L'estratto al carbonato sodico ha lieve azione locale, se la dose che si inocula non è molto rilevante. In caso contrario, si forma un focolaio d'infiltrazione, che può anche essere seguito da necrosi del tessuto circostante.

c) Il residuato dell'estratto etereo determina sempre ed in grado intenso dei fatti necrotici; talora nel punto d'inoculazione si hanno necrosi così profonde che interessano tutte le parti molli. Ma in nessun caso si nota quell'edema gelatinoso che si ha per l'inoculazione dei bacilli vivi nel tessuto sottocutaneo. Se il fatto avviene, l'esame bacterioscopico accurato dimostra la presenza di bacilli sopravissuti all'imperfetta sterilizzazione del materiale inoculato.

Bac. mesentericus, micoydes, megaterium, pseudo-antrace di Warlich.

a) L'estratto acquoso di questi germi, inoculato nel tessuto sottocutaneo delle cavie e dei conigli, ha soltanto una leggiera azione irritante, paragonabile a quella del *bact.-prodigiosum*.

b) L'estratto al carbonato sodico produce degli ascessi che si riassorbono lentamente; ma non si osserva nessun fatto necrotico.

c) Il residuo dell'estratto etereo ha la stessa azione locale dell'estratto al carbonato sodico, od un po' più intensa; infatti esso si riassorbe difficilmente senza produrre fatti necrotici.

Streptotrix alba, pseudo-tubercolare del latte.

a) L'estratto acquoso, inoculato sotto cute, non determina alcun fatto notevole.

b) L'estratto al carbonato sodico produce una leggiera tumefazione, che in breve si riassorbe.

c) Il residuo dell'estratto etereo produce un'infiltrazione parvicellulare, scomparsa la quale, resta un piccolo nodulo duro.

II.

Azione generale.

L'azione generale degli estratti dei varii germi l'ho dedotta dallo studio *delle variazioni di peso*, *dall'andamento della temperatura, e dall'azione sul sangue* degli animali da esperimento, trattati con inoculazioni di questi estratti.

a) Variazioni di peso degli animali trattati.

Innanzi tutto ho voluto vedere se qualsiasi estratto del corpo bacterico in genere può produrre una diminuzione nel peso dell'animale inoculato. Ho potuto così constatare che tutti gli estratti dei germi summentovati hanno un'azione marantica; ma perchè pareva che quest'azione si manifestasse più intensamente coll'inoculazione del residuo etereo-alcoolico, ho limitato l'esperimento all'inoculazione di gr. 0.25 degli estratti dello *stafilococco piog. au.*, del *bact. coli*, del *bacillo* del *carbonchio*, e del *bacillo micoide*.

I risultati ottenuti si possono riunire nel seguente quadro:

SPECIE e numero dell'animale	Germe da cui proviene l'estratto	Peso dell'animale prima dell'inoculazione — Grammi	Peso dell'animale dopo i diversi giorni dall'inoculazione
1ª cavia	Stafilococco piogeno aureo	585	460 gr. dopo 8 giorni
2ª »	Id.	450	380 » 9 »
3ª »	Id.	360	290 » 5 »
4ª »	Id.	290	230 » 13 »
5ª »	Id.	380	330 » 7 »
6ª »	Id.	350	270 » 13 »
1º coniglio . . .	Bacterium coli	1270	970 » 28 »
2º » . . .	Id.	1160	670 » 12 »
3º » . . .	Id.	1330	870 » 4 »
4º » . . .	Id.	900	810 » 6 »
5º » . . .	Id.	1210	1020 » 5 »
6º » . .	Id.	1260	960 » 6 »
1ª cavia	Carbonchio	550	270 » 33 »
2ª »	Id.	540	220 » 16 »
3ª »	Id.	620	490 » 13 »
4ª »	Id.	480	400 » 7 »
1ª cavia	Micoide	530	370 » 7 »
2ª »	Id.	470	280 » 5 »
3ª »	Id.	380	200 » 30 »

Analoghe esperienze erano state fatte in questo laboratorio dal Grenga collo stafilococco aureo, col bact. tiphi, col bact. vulgare, col bac. del carbonchio, col bac. radiciforme; egli iniettò gli estratti acquosi ed i residuati degli estratti di questi germi in cavie e conigli, seguendo il metodo di Koch.

L'A. giunse a risultati pressochè uguali ai miei.

È dunque evidente che gli estratti bacterici hanno un'azione marantica, e che quest'azione è specialmente dovuta al materiale insolubile nell'acqua.

b) Variazioni della temperatura negli animali trattati.

Per studiare le oscillazioni che si potevano ottenere nella temperatura degli animali inoculati con gli estratti bacterici, siccome per trarre delle conclusioni esatte era necessario far uso di materiale assorbibile, feci esperimenti col solo estratto alcalino (che in date diluizioni è tollerato dagli animali senza che si abbiano dei fatti locali intensi) dello *stafilococco aureo*, del *b. coli* e del *b. mesenterico*. E per motivi analoghi ho fatto esperienze su animali della stessa specie, su conigli.

Esperienze collo stafilococco aureo.

Inietto l'estratto alcalino di questo germe in tre conigli: in due si determinano fatti locali intensi. Quello in cui non si osservano gli stessi fatti si tiene in osservazione per 12 giorni, nei quali metodicamente alla stessa ora si prende la temperatura:

Temperatura	prima	dell'inoculazione			38°.
Id.	dopo	l'inoculazione	1°	giorno	39.9
Id.		id.	2°	id.	40.6
Id.		id.	3°	id.	40.
Id.		id.	4°	id.	41.1
Id.		id.	5°	id.	40.
Id.		id.	6°	id.	40.
Id.		id.	7°	id.	40.
Id.		id.	8°	id.	39.
Id.		id.	9°	id.	39.
Id.		id.	10°	id.	39.
Id.		id.	11°	id.	39.
Id.		id.	12°	id.	39.

Esperienze col bacterium coli.

S'inietta l'estratto alcalino di questo germe in sei conigli, dei quali quattro presentano fatti locali intensi, due no. Ed in questi, tenuti in osservazione per 15 giorni, la temperatura presentò queste oscillazioni:

1° Coniglio —	Temperatura	prima	dell'inoculazione			40.°1
	Id.	dopo	l'inoculazione	1°	giorno	41.
	Id.		id.	2°	id.	41.9
	Id.		id.	3°	id.	41.
	Id.		id.	4°	id.	41.
	Id.		id.	5°	id.	39.
	Id.		id.	6°	id.	39.
	Id.		id.	7°	id.	39.
	Id.		id.	8°	id.	39.
	Id.		id.	9°	id.	39.
	Id.		id.	10°	id.	39.
	Id.		id.	11°	id.	40.
	Id.		id.	12°	id.	40.5
	Id.		id.	13°	id.	39.5
	Id.		id.	14°	id.	39.5
	Id.		id.	15°	id.	40.

2° Coniglio —	Temperatura	prima	dell'inoculazione			39.5
	Id.	dopo	l'inoculazione	1°	giorno	41.
	Id.		id.	2°	id.	39°.9
	Id.		id.	3°	id.	40.
	Id.		id.	4°	id.	39.1
	Id.		id.	5°	id.	39.2
	Id.		id.	6°	id.	39.
	Id.		id.	7°	id.	38.8
	Id.		id.	8°	id.	38.
	Id.		id.	9°	id.	38.6
	Id.		id.	10°	id.	38.5
	Id.		id.	11°	id.	39.
	Id.		id.	12°	id.	38.
	Id.		id.	13°	id.	38.
	Id.		id.	14°	id.	38.
	Id.		id.	15°	id.	38.

Esperienze fatte col bac. mesenterico.

Inoculai l'estratto alcalino di questo germe in due conigli, dei quali uno non presentava fatti locali.

Le oscillazioni della temperatura di quest'ultimo negli otto giorni di osservazione furono queste:

Temperatura	prima	dell'inoculazione			39°.
Id.	dopo	l'inoculazione	1°	giorno	40.
Id.		id.	2°	id.	41.
Id.		id.	3°	id.	40.
Id.		id.	4°	id.	39.5
Id.		id.	5°	id.	39.
Id.		id.	6°	id.	38.
Id.		id.	7°	id.	38.
Id.		id.	8°	id.	37.6

Anche il Grenga ha fatto ricerche analoghe cogli estratti acquosi, ottenuti col metodo del Koch, del coli, del tifo, dello stafilococco e del mesenterico.

Parrebbe quindi che gli estratti dei bacterii, e specialmente i loro nucleo-proteidi, inoculati negli animali da esperimento determinino un'elevazione di temperatura che si mantiene per un dato numero di giorni da quello dell'inoculazione; e dico parrebbe, perchè considerando bene queste oscillazioni si vede che esse possono oscillare nei limiti normali fisiologici della temperatura dei conigli. Le grandi oscillazioni che si hanno quando agli animali si iniettano i prodotti insolubili, e che determinano fatti locali intensi, possono essere indipendenti dall'azione del materiale inoculato. Non avendone qui fatto cenno, credo inutile aggiungere in proposito speciali considerazioni.

Comunque, quando l'animale si avvicina alla morte, quando si accentua lo stato marantico, l'elevazione termica cessa.

c) Azione sul sangue.

Volli anche sperimentare l'azione degli estratti bacterici sul sangue inoculandoli nelle vene dei conigli e mettendoli direttamente in contatto coi corpuscoli rossi degli stessi animali in vitro.

Inoculazione nelle vene dell'estratto acquoso.

L'estratto acquoso dei germi su ricordati, centrifugato opportunamente, ed inoculato nelle vene dei conigli non manifesta alcuna azione degna di nota. Gli animali così trattati, alcune volte diminuiscono di peso, ma non sempre.

Inoculando invece il residuato acquoso in sospensione in acqua con cloruro sodico, ho notato che se la quantità inoculata raggiunge determinate proporzioni, gli animali in genere soccombono in un periodo di tempo più o meno breve, che varia da pochi minuti a qualche ora. In tal modo sperimentai l'azione dei nucleo-proteidi dello stafilococco aureo, del mic. candicans, del bac. mesenterico e del bac. del carbonchio.

Simile azione manifestarono i residuati etereo-alcoolici.

Per vedere poi a quale parte del contenuto bacterico fosse dovuta quest'azione, sperimentai l'estratto alcalino dei bacterii (nucleoproteidi), ed i residuati dall'estrazione con alcali dei residui etereoalcoolici (nucleine).

Azione degli estratti alcalini inoculati nelle vene.

Per studiare l'azione degli estratti alcalini, usai delle soluzioni sature di nucleo-proteidi in carbonato sodico 0,25 per cento, opportunamente diluiti con cloruro di sodio al 0,85 in modo da togliere loro proprietà emolitiche (Casagrandi). Inoculai così l'estratto dello stafilococco, del mesenterico volgare, del radiciforme, in quantità variabili da 1 c. c. a 10 per volta, ripetendo l'inoculazione varie volte nello stesso animale, e nello stesso giorno. Constatai: 1° che in genere l'inoculazione dei nucleo-proteidi determina la morte dell'animale in tempo relativamente breve (30 minuti, 1 ora, 2 ore); 2° che degli animali inoculati, qualcuno sopravvive; 3° che gli estratti dei germi suddetti non hanno azione uguale per intensità. Ad esempio il *mesentericus vulgatus* ha fornito un nucleo-proteide meno potente degli altri.

Quasi analoghi risultati ho ottenuto colle ricerche di saggio istituite cogli estratti nucleo-proteidici del *micrococcus candicans*, del *pseudo-antrace* di Warlich e del *b. ossalatico*. Le soluzioni sature di questi nucleo-proteidi, inoculate negli animali, non li hanno uccisi in dose minore ai 10 c. c. nel termine di 1-2 ore.

Azione del residuo etereo-alcoolico inoculato nelle vene.

Sottoposi gli estratti del residuato etereo-alcoolico all'estrazione ripetuta con $Na\ Co_3$, ed inoculai il materiale, opportunamente aggiunto di cloruro sodico al 0,85 per cento nelle vene dei conigli. Questo estratto, anche inoculato in quantità di 10 c.c., non determina la morte dell'animale. Ma il residuato dell'estrazione, ripreso colla medesima soluzione ed inoculato negli animali, ha azione coagulante. Tanto m'inducono a credere le esperienze così fatte coi nucleo-proteidi del *micrococcus candicans* e del *pseudo-antrace* di Warlich, coi quali stabilii specialmente le mie indagini.

Azione sul sangue in vitro.

Quanto all'azione dei diversi estratti sui corpuscoli rossi, limitai le ricerche a quella degli estratti acquosi (aggiunti di cloruro sodico 0,85 per cento) ed a quella degli estratti alcalini in $Na\ Co_3$ e cloruro sodico, ma in nessun caso osservai azione emolitica.

Conclusioni.

1ª Dal corpo bacterico dei germi più diversi, patogeni e non patogeni, si possono estrarre delle sostanze dotate di azione locale e generale.

L'azione locale si manifesta in vario grado e va dalla semplice infiltrazione leucocitaria all'ascesso e alla necrosi; l'azione generale si dimostra con diminuzione di peso, marasmo, e forse anche con elevazione termica.

2ª Dei varii estratti quello che ha azione locale e generale meno intensa, è l'estratto acquoso: l'ha più intensa l' estratto alcalino, e più ancora il residuato etereo-alcoolico.

3ª Gli estratti alcalini dei bacteri hanno azione coagulante sul sangue: tale azione sta in rapporto colla quantità del materiale inoculato, con le condizioni organiche dell'animale trattato, e fino ad un certo punto colla specie del bacterio da cui si trae il materiale per l'esperimento: tale azione però si perde negli estratti alcalini del residuo dell'estrazione con etere ed alcool.

4ª I residuati dell'estratto etereo-alcoolico, dopo trattamento con soluzione alcalina, hanno la più intensa azione locale e generale.

Istituto d'Igiene della R. Università di Roma

Sui veleni di alcune muffe

(Contributo all'eziologia della pellagra)

Memoria I per il dott. **MELCHIORRE DI PIETRO.**

Dalla maggioranza dei pellagrologi si ritiene finora che la pellagra sia prodotta essenzialmente da una intossicazione derivante da veleni che si svolgono nel maiz guasto, e che la miseria del bilancio nutritivo ne costituisca la causa predisponente.

Questa opinione è in vero la più accettabile, perchè sorretta da importanti dati clinici e reperti anatomo-patologici; è però, allo stato attuale delle cose, troppo generica e non ancora nettamente delimitata per servirci quale base di una terapia e profilassi razionale.

Si comprende quindi come tutti gli studî recenti convergano nel tentativo di precisarne la genesi, o meglio riuscire a quel desideratum che sarebbe la dimostrazione chimica del fatale veleno.

Sono memorandi al riguardo, in quest'ultimo trentennio, gli studî sperimentali del Lombroso, cui tennero dietro altre pregevoli ricerche del Monti, del Tirelli, del Pellizzi, del Frisco, del Gosio, del De Giaxa, del Babes, ecc.

Anche nell'Istituto d'Igiene di Roma il prof. A. Celli volle che si tentasse qualche indagine su questo soggetto, e si compiacque affidarne a me l'onorifico incarico. Io facendo tesoro dei suoi consigli e delle sue felici intuizioni (1), tosto intrapresi una serie di ricerche.

(1) A. Celli, *Epidemiologia*. Pag. 215.

Il programma che a tal'uopo ideai ed eseguii fu il seguente:

1° Indagini preliminari, mediante esami batteriologici, della qualità e quantità dei microrganismi esistenti nel maiz guasto a vari stadii di ammuffimento.

2° Indagini sui substrati maidici abbandonati a determinati stadii di ammuffimento spontaneo per conoscere se contengano sostanze tossiche, e, possibilmente, precisare di qual natura fossero.

3° Colture pure dei principali ifomiceti invasori del maiz, e ricerca del potere tossico dapprima sui rispettivi substrati, poi sulle rispettive efflorescenze di ciascun ifomiceto.

CAPITOLO I.

Indagini batteriologiche sui substrati maidici abbandonati allo ammuffimento spontaneo.

A). Cenno sui principali reperti batteriologici.

Quando nell'ultimo decennio del secolo scorso cominciò a perdere terreno la teoria che ammetteva la natura infettiva della pellagra, le indagini batteriologiche a poco a poco non si fecero più sui pellagrosi, e si rivolsero invece nel maiz guasto. Ed era naturale che ammessa l'importanza della teoria oggi dominante — che, cioè, trattisi di un veleno x svoltosi nel maiz sotto l'influenza di microrganismi — appunto con la ricerca di questi microrganismi nel maiz si venisse a preparare l'indispensabile materiale per lo studio sistematico della questione.

Il Lombroso, dopo il Balardini, fu il primo ad affrontare la questione partendo da tali analisi batteriologiche; indi seguirono: il Cattaneo, il Cuboni, il Maiocchi, il Bordoni-Uffredduzzi e l'Ottolenghi, il Monti, il Tirelli, il De Giaxa, il Gosio, il Carraroli.

Il Lombroso (1), in quasi tutti i grani avariati naturalmente o artificialmente, trovò con la maggior frequenza il Penicillum glaucum, l'Oidium lactis, l'Eurotium herbariorum, lo Sporithrichium maidis del Garovaglio (1874), il Bac. mesentericus vulgatus, altri bacilli che allora si comprendevano con la denominazione collettiva di B. thermo, il B. tremulus, dei diplococchi, dei micrococchi (micr. Luteus Cohn ?), il Rhizopus nigricans Ehrenberg, il Mucor stolonifer De Barry, l'Asperigillus glaucus, l'Oospora verticilloides Saccardi.

Il Cattaneo: (2) Il Penicillum glaucum Link, il Mucor racemosus (Catt.),

(1) C. Lombroso, *Trattato profilattico e clinico della pellagra*, 1892.

(2) Vedi nota pubblicata dal Sormani nella Geografia nosologica dell'Italia. Roma, 1881 - pag. 153.

la Bothritis vulgaris (Fries), il Rhizopus nigricans (Ehr.), lo Sporithrichium nigrum (Eng.), il Coremium vulgare (Corda), l'Asperigillus Michaelius, l'Eurotium herbariorum.

Il Cuboni: (1) Il Saccharomices mycoderma, la Sarcina ventriculis, la Oospora verticilloides.

Il Maiocchi: (2) Il Bacillus maidis, dimostrato poi identico al Bac. mesentericus vulgatus dal Paltauf e dall'Heider (3).

Il Bordoni-Uffreduzzi e l'Ottolenghi: (4) Il Bac. maidis di cui misero in luce la grande resistenza alla sterilizzazione.

Il Monti e il Tirelli: (5) Il Penicillum glaucum, il Mucor racemosus (che vorrebbero identificare con lo Sporisorium maidis del Balardini), il Rhizopus nigricans di Ehrenberg, lo Sterigmatocystis nigra di van Tieghem, il Saccharomyces sphaericus albus, un micrococco aranciato liquefaciente composto di grossi elementi rinniti in accumuli, un micrococco simile al precedente ma di color latteo, un micrococco costituito da grossi elementi rotondi, dei bacilli di cui alcuni somiglianti al Pneumobacillo del Friedlander, altri somiglianti ai comuni bacilli della putrefazione, il Bac. citreo, il Bac. fluorescente aureo il Bac. fluorescente gracile, il Bac. fluorescente liquefaciente.

Il De Giaxa: (6) fece uno studio batteriologico accuratissimo dei microrganismi che sogliono trovarsi nel maiz, e, tra la ricca flora di muffe, blastomiceti e batteri, constatò che non manca quasi mai il Penicillum glaucum.

Il Gosio: (7) fra le muffe che trovano buone condizioni di sviluppo nel maiz fissò speciale attenzione al Penicillum glaucum, e l'ebbe in forte sospetto quale agente pellagrogeno.

Il Carraroli: (8) finalmente quest'anno trova, oltre il comune Penicillum glaucum e qualche altro fungo, uno speciale microrganismo polimorfo, un bacillo che egli avrebbe visto passare coi rifiuti dei maizofagi nel terreno, di lì, attraverso le radici del maiz, salire nella pianta, ivi assumere forma di grosso cocco, raggiungere l'interno delle cariossidi, poi, cogli alimenti, pervenire nell'intestino dei maizofagi, di lì nel sangue, e, senza moltiplicarvisi, eliminarsi pei comuni emuntorii. Questo bacillo spiegherebbe, secondo Carraroli, tutte le manifestazioni della pellagra, i disturbi gastro-enterici, i fenomeni nervosi, le affezioni cutanee, perfino il tifo pellagroso.

---

(1) *Micromiceti nelle cariossidi di maiz* - Archivio di Psichiatria, Vol. III, pag. 355. — Vedi pure Annali di agricoltura, industria e commercio, 1886; e Atti della R. Accademia dei Lincei, 1885-86, Serie IV, Vol. II.

(2) Bollettino della R. Accademia medica di Roma. Anno VII, n. 7.

(3) *Der Bacillus maidis* (Cuboni) *und seine Beziehungen zur Pellagra.* (Medizin, Jahrbuch, 1868).

(4) Vedi Archivio di Psichiatria, 1890.

(5) Vedi Atti della R. Accademia dei Lincei, 1890, pag. 132, ecc.

(6) *Contributo alle cognizioni sulla etiologia della pellagra.* (Questi Annali, 1892-1893).

(7) *Ricerche batteriologiche e chimiche sulle alterazioni del maiz.* Rivista d'Igiene e Sanità pubblica, 1896.

(8) *Dell'etiologia della pellagra.* Rivista medica, Milano, agosto 1901.

B). Ricerche proprie sui microrganismi del maiz guasto.

Queste sono state dirette: 1° Su maiz quarantino proveniente da Ferrara e lasciato poi muffire in laboratorio, a temperatura ordinaria, in ambiente umido. — 2° Su infusi di maiz abbandonati allo ammuffimento spontaneo a temperatura ordinaria. — 3° Su maiz guasto proveniente da località infeste da pellagra.

Ecco in breve il metodo seguito e i risultati ottenuti.

1° — *Esame del maiz lasciato muffire in laboratorio a temperatura ordinaria.*

Disposi l'esperimento nel seguente modo: In una bacinella di vetro misi un alto strato di maiz, sopra vi versai tant'acqua da tenere sommersa circa una metà di detto maiz. Poi lasciai scoperta la bacinella a temperatura ordinaria pe 10 giorni, e al 10° giorno procedetti all'esame batteriologico.

Dieci cariossidi prese qua e là dai varii strati, le dibatto in un matraccio sterilizzato con 50 cc. di acqua, poi fo le opportune diluizioni in agar acido-glucosato su capsule del Petri e lascio sviluppare a 22° C.

Ho adoperato l'agar acido preparato secondo il metodo Casagrandi (1) perchè ho constatato che la fermentazione spontanea del maiz assume per lo più, almeno in principio, un carattere acido, essendo anche mia intenzione di pescare e prendere in esame quei germi che meglio si adattano a vivere in tale ambiente; tanto più che, finora, non mi è mai capitato di sorprendere ad essere consumato dall'uomo un maiz, una farina, una polenta a tal grado di avaria da presentare reazione alcalina: invece ho trovato tale reazione per lo più acida e solo qualche volta neutra.

Al 5° giorno procedo all'esame delle piastre e alla pesca delle colonie: Trovo che le colonie più numerose sono quelle di *Penicillum glaucum* (2) e altri penicilli, poi vengono quelle del genere *Asperigillus* (*Asperigillus flavescens, Asperigillus glaucus, Asperigillus fumigatus*), parecchie colonie di due *Mucor* (il *Mucor stolonifer* e il *Mucor mucedo*), non mancano colonie del così detto *Oidium albicans*, di blastomiceti, saccaromiceti, sarcine e schizomiceti.

2° — *Esame degl'infusi di maiz abbandonati all'ammuffimento spontaneo per 25 giorni a temperatura ordinaria.*

Disposi l'esperimento come segue: Dieci fiaschi da 2 litri ripieni per circa una metà di infuso di maiz e un pugno di cariossidi, li tenni per 25

---

(1) Su alcune cause della non coltivabilità dei blastomiceti. Questi Annali, Vol. VIII, 1898.

(2) Noto che col nome di *Penicillum glaucum* nella presente memoria, dal 1° al 3° Cap., non voglio intendere soltanto il *Penicillum glaucum* Link, ma collettivamente i varii penicilli verdi che ho isolati; dappoichè nel maiz guasto se ne rinvengono appunto parecchie varietà ben distinte e di cui darò relazione in seguito.

giorni a temperatura ordinaria. Li lasciai scoperti, cioè senza tappi, esposti agli eventuali inquinamenti e poscia procedetti all'esame batteriologico.

Da ciascun fiasco, previamente dibattuto, prelevo una goccia di liquido, e con questo materiale fo le opportune diluizioni e semino su piastre all'agar acido glucosato. Al 5° giorno procedo alla pesca delle colonie: Isolo 15 microrganismi, cioè, il *Penicillum glaucum*, l'*Asperigillus glaucus*, l'*Asperigillus flavescens*, il *Mucor stolonifer* e il *Mucor racemosus*, e il resto schizomiceti e blastomiceti.

Da un fiasco poi che si distingueva dagli altri per un buon odore ricordante quasi l'acetato di amile, ho isolato, oltre i microrganismi in gran parte identici ai suddetti, un *Mucor* che riproduce un aroma gradevole di frutta quando si coltiva su maiz o su agar acido, mentre dà cattivo odore su gelatina comune alcalina. Nell' interno delle cariossidi prese dal fondo del fiasco odoroso rinvenni coll'esame batterioscopico abbondanti bacilli immobili, leggermente rigonfiati in un estremo, talora verso il mezzo, e nel rigonfiamento contenenti una spora. Si coloravano discretamente con la soluzione iodo-iodurata. Non mi riuscì coltivarli in presenza di O^2 (*Clostridium butyricum Prazmowski?*).

3° — *Esame del maiz guasto proveniente da località infeste da pellagra* (*Prov. di Mantova*).

Scelgo 20 cariossidi fra quelle più avariate, una per volta le schiaccio in un mortaio, e a poco a poco le riduco in polvere. Quindi mi servo di 2 anse di tale polvere per preparare una serie di diluizioni su agar acido glucosato che verso in capsule del Petri per procedere all'esame batteriologico. Lascio per 5 giorni a 22° C. Ottengo lo sviluppo di microrganismi non molto numerosi. Primeggia sempre il *Penicillum glaucum*, tanto che la maggior parte delle colonie sono appunto date da esso. Tra le colonie ifomicetiche se ne rinviene pure qualcuna di *Asperigillus flavescens, Asperigillus glaucus, Mucor mucedo*, due varietà di *Bothritis*, due sarcine, cioè la lutea e l'auranziaca, alcuni blastomiceti, micrococchi e bacilli banali.

I risultati delle analisi batteriologiche che fin qui ho eseguite non presentano notevoli differenze, sia che si tratti di maiz, naturalmente avariato o fatto muffire artificialmente. Sorprende però la straordinaria diffusione delle *Asperigillee* e fra queste si distinguono in special modo i *Penicilli* non solo per essere i più comuni invasori del maiz. ma per la spiccata predilezione che mostrano per quella parte delicata delle cariossidi che è il germe. Se si volesse da questi dati trarre una qualsiasi deduzione sul probabile agente

pellagrogeno, si dovrebbe ritenere che esso ben difficilmente potrebbe trovarsi nel gruppo degli schizomiceti; infatti gli schizomiceti che ho rinvenuti nel maiz guasto col metodo da me seguito, sono dei più banali e già studiati da altri; in generale poi presentano poca importanza dal lato tossicologico specialmente allorchè vegetano in substrati poveri di acqua, come suole essere appunto il granturco conservato per l'alimentazione umana. Inoltre si sa che le fermentazioni determinate da schizomiceti assumono per lo più un carattere putrido e un maiz a tal grado di avarìa non trova consumatori.

Del pari il probabile agente pellagrogeno ben difficilmente potrebbe ricercarsi nel gruppo dei blastomiceti: già da altri è stato dimostrato che i blastomiceti in genere non hanno azione patogena diversa da quella che è data dal comune protoplasma dei batterii anche non patogeni, cioè azione flogogena locale e marantica; nessuna produzione di veleni primarii o secondarii (Casagrandi) (1).

Neppure è il caso di ricercarlo fra le così dette *streptotrix*, non fosse altro perchè esse sono molto rare nel maiz guasto.

Allora, fra i microrganismi che trovano le migliori condizioni di vita nel maiz alquanto umido, non rimarrebbe che fissare l'attenzione sugli ifomiceti, molto più che appunto si ha l'esempio, in qualcuno di essi, dell'attitudine alla produzione di veleni terribili (CLAVICEPS PURPUREA). *Del resto anche le analogie cliniche e anatomo-patologiche esistenti fra ergotismo e pellagra, volentieri conducono all'ipotesi che possa trattarsi di veleni se non affini per composizione a quelli della segala cornuta, almeno affini ad essi per la comune origine ifomicetica e in specie per l'azione elettiva su certi fasci del sistema spinale ed elementi centrali* (2)

---

(1) *Ricerche sull'azione patogena dei blastomiceti.* Questi Annali, Vol. IX (nuova serie), fasc. II, 1899.

(2) Rendo vive grazie al dott. O. Casagrandi, libero docente e assistente alla cattedra d'igiene in questo Istituto, perchè ben sovente mi ha aiutato durante le surriferite ricerche.

CAPITOLO II.

Indagini sulla tossicità dei substrati maidici abbandonati all'ammuffimento spontaneo.

A) Cenno sui principali ricercatori.

Dal Balardini che prima sperimentò su se stesso e sui gallinacei l'effetto tossico del maiz guasto, ben poco ha progredito fino ad oggi la questione sui veleni del maiz guasto in rapporto all'eziologia della pellagra (1).

Parecchi autori hanno fatto delle ricerche per chiarire l'argomento.

Una speciale attività vi spiegò il Lombroso, ed è a tutti nota la pellagrozeina che egli rinvenne, come pure l'alcaloide ad azione stricnica, e quell'altra sostanza, chimicamente non definita, caratterizzata dall'azione tossica paralizzante (2).

Il Pellogio (3) isolò dal maiz guasto una sostanza amara ad azione paralizzante.

Il Monselice (4) però non rinvenne alcaloidi su campioni di maiz avariato che egli esaminò.

Il Frisco (5) trovò tossici gl'infusi acquosi di maiz abbandonati all'ammuffimento spontaneo.

Parimenti il Serena (6) riscontrò assai tossici gl'infusi putridi, e tali che la M. D. L. per conigli, per via ipodermica. corrispondeva a cmc. 0.07 per ettogramma di animale.

Il Babes e il Manicatide (7) trovarono tossici gli estratti di maiz guasto ricavati con metodo analogo a quello per la preparazione del maiz alimentare. Questi estratti producevano, somministrati per via sottocutanea, inappetenza, emorragie intestinali, estenuamento delle forze, paralisi iniziantesi dal treno posteriore, rigidità tetaniforme, opistotono, caduta dei peli e desquamazione epidermica.

In generale però tali ricerche sono state fatte su maiz e preparati maidici troppo profondamente alterati, mentre si sa che il maiz quale viene ordinariamente consumato, non è mai allo stadio di putrefazione.

Vi ha pure che non si è tentato di conoscere la derivazione di

(1) A. Celli. *Epidemiologia generale e speciale.* Roma, 1901.
(2) Loc. cit.
(3) Rendiconto istituto Lombardo. Milano, 1876.
(4) *Ricerche chimico-tossicologiche sopra alcuni campioni di maiz.* Mantova, 1881.
(5) Questi Annali, vol. V, 1895.
(6) Questi Annali, vol. X, 1900.
(7) Comunicazione all'Académie des Sciences di Parigi, 16 luglio 1900.

tali veleni, mentre questa ricerca sarebbe stata la pietra angolare per lo studio sistematico della questione. Per cui oggi non sappiamo più di questo che, cioè, nel caos della fermentazione di carattere putrido del maiz compariscono alcuni alcaloidi ed altre sostanze tossiche di natura chimica non definita.

Dall'altra parte i clinici, in maggioranza, mentre sono favorevoli alla teoria dell'intossicazione, trovano poco persuasivi gli esperimenti fatti con simili prodotti.

B) Ricerche proprie.

Queste versano:

1° Su infusi di maiz

a)	esaminati al	30°	giorno	di ammuffimento	spontaneo
b)	»	10°	»	»	»
c)	»	15°	»	»	»
d)	»	20°	»	»	»
e)	»	25°	»	»	»
f)	»	30°	»	»	»

2° Su polente

a)	esaminate all'	8°	giorno	di ammuffimento	spontaneo
b)	»	11°	»	»	»
c)	»	22°	»	»	»
d)	»	30°	»	»	»

3° Su maiz intero

a)	esaminato al	9°	giorno	di ammuffimento	spontaneo
b)	»	15°	»	»	»
c)	»	20°	»	»	»

1. *Ricerche su infusi di maiz lasciati muffire a temperat. ordinaria.*

Per questa indagine mi sono servito dapprima di quegli stessi infusi di maiz descritti nel Cap. I a pag. 6, ed ho proceduto all'esperimento come segue;

Ho prelevato da ciascuno dei nove fiaschi (eccettuato quello odoroso) circa gr. 200 di liquido; tutti questi liquidi mescolati insieme li ho filtrati allo Chamberland, poi una parte li ho inoculati sottocute a cavie e conigli in dose di 1 a 5 cmc. Ottenni solo lievi effetti locali ma nessun effetto generale.

Dall'altra parte ho concentrato a temperatura di circa 60° C. il rimanente del filtrato fino a consistenza sciropposa, quindi l'ho iniettato a cavie per via sottocutanea, in dose di 1 a 2 cmc. Ottenni notevoli effetti locali, ma nessun effetto generale.

Dinanzi alla mancanza di tossicità in questi infusi puzzolenti che pure erano stati preparati quasi nella stessa guisa di quelli molto tossici del Serena (1) ho voluto ripetere l'esperimento come controllo nelle seguenti condizioni.

In un fiasco da 2 litri ho messo un 250 gr. di maiz e circa un litro di acqua, e l'ho abbandonato a sè, senza tappo, a temperatura ordinaria.

Al 10° giorno si vedeva il liquido diventato torbido e la superficie ricoperta in gran parte da ricche vegetazioni ifomicetiche; odore sgradevole.

A questo punto ne prelevo pochi cmc., li filtro allo Chamberland, e il filtrato di color paglierino, di reazione acida, lo inietto sottocute ad una cavia in dose di 3 cmc. Risultato: nessun effetto tossico generale; lievi effetti locali.

In seguito ho ripetuto ogni cinque giorni dei saggi identici al surriferito facendo complessivamente sul detto fiasco 5 saggi nello spazio di un mese.

I risultati ottenuti sono stati sempre negativi, cioè che nella dose di 3 cmc. per via ipodermica le cavie non hanno mostrato alcun effetto tossico generale ma solo insignificanti disturbi locali.

Tuttavia ritengo che i risultati qui da me ottenuti diversi dal Serena non contradicono i suoi esperimenti, ma dimostrano che nel fenomeno delle fermentazioni, ove libero è l'intervento dei microrganismi, i risultati delle disintegrazioni e delle sintesi dipendenti dalla loro attività non possono essere costanti, ma devono molto variare col variare delle specie che vengono a contendersi il substrato.

Infatti fra i miei infusi ve n'è pur uno che si è mostrato tossico, ed è il filtrato del fiasco che emanava odore di frutta (v. Cap. I), al punto di uccidere in circa tre giorni le cavie di media grossezza alla dose di 2 cmc. per via ipodermica. Qui i fenomeni generali consistevano in una specie di sopore, paresi, e poi paralisi prevalente sugli arti posteriori. Alla necroscopia, sul punto di inoculazione, si trovavano essudati fibrinosi ed iperemia piuttosto diffusa nel tessuto sottocutaneo; nulla di notevole negli organi interni.

Ho avuto sospetto che tale tossicità in gran parte fosse dovuta a sostanze volatili, cioè alcool ed eteri per cui le cavie sono sensibilissime. Le sommarie indagini fatte in proposito hanno confermato l'ipotesi.

2. *Ricerche su polente a vari stadi di ammuffimento.*

Preparazione delle polente. — Preparai tali polente con farina di maiz e acqua di fonte impastando fino a consistenza assai molle o semifluida, quindi le posi ad ammuffire a temperatura ordinaria (stagione estiva) su quattro catini.

Dopo il 4° giorno dalla preparazione queste polente presentavansi velate completamente da patine biancastre che qua e là andavano assumendo ove

(1) M. Serena. *Sui veleni ed antiveleni del maiz guasto.* Questi Annali, Vol. X, 1900.

colore verdognolo, ove giallognolo, e, inoltre, tipico aspetto di vegetazioni ifomicetiche con ifi aerei e belli intrecci miceliari, che mano mano si differenziavano in tanti gruppi ben distinti, e andavano assumendo i caratteri morfologici propri di ciascun genere. Inoltre cominciava a percepirsi in tutte odore alcoolico e acetico. L'odore acetico era però limitato solo agli strati superficiali, mentre in quelli profondi l'odore era *sui generis*, non sgradevole. La reazione delle polente era acida in tutti i quattro catini, e tanto in superficie che in profondità.

Col passare dei giorni la superficie di sviluppo assumeva un aspetto sempre più rigoglioso, e si accentuavano e prendevano predominio le vegetazioni verdi; seguivano quelle brunastre, poi quelle biancastre e quelle gialliccie, ecc.

Scoprendo in qualche punto gli strati sottostanti delle polente, queste apparivano di colorito normale e non presentavano di notevole che fitte lacune crepitanti, indizio delle fermentazioni in corso.

Preparazione degli estratti. — Premetto, o meglio ripeto, che ho estese le mie ricerche su quattro polente, cioè la 1ª all'8° giorno di ammuffimento, la 2ª all'11°, la 3ª al 22°, la 4ª al 30°.

Devo pure far noto che in quest'ordine di ricerche ho escluse le patine ifomicetiche le quali saranno in seguito prese in esame diretto (v. Cap. IV).

Intanto, poichè qui mi proponevo di conoscere se in seno alle polente muffite si rinvenissero sostanze tossiche libere e solubili nell'acqua, la prima cosa che facevo era di raccogliere tutto il liquido che mi era possibile separare dalle dette polente (previo allontanamento delle vegetazioni ifomicetiche) servendomi all'uopo di semplici filtri di carta, mi permettevano di raccogliere sufficiente quantità di liquidi per gli esperimenti. Una parte di questi liquidi veniva poi, senz'altro trattamento che un'accurata filtrazione per carta, sperimentata su cavie per via sottocutanea generalmente in dose di 2 cmc. Un'altra parte la concentravo su largo piatto alla temperatura di 50° C., e ridotta a consistenza sciropposa, la sperimentavo nel modo suddetto sulle cavie.

Dall'altra parte considerando la possibilità di aver che fare con veleni che non passano facilmente nell'acqua e inoltre esistenti in scarsa quantità nei substrati, volli pur tentare il metodo di estrazione delle sostanze alcaloidee e corpi analoghi dello Stass-Otto (1).

Ecco il procedimento seguito in ciascuna delle 5 prove:

Ad un 300 gr. circa di ciascuna polenta acida, alla quale come ho detto avevo in precedenza sottratta molt'acqua, aggiungevo poco più di un litro di alcool a 95° poi lasciavo bollire il tutto per qualche ora su apparecchio a ricadere. Quindi separavo l'alcool, distillavo, e il residuo rimasto sul pallone l'evaporavo quasi fino a secchezza. L'estratto alcoolico ripreso con acqua lo dibattevo ripetute volte con etere solforico, decantavo l'etere, serbando da una parte la porzione acquosa, e dall'altra evaporando il soluto etereo. Dell'estratto etereo mi servivo direttamente pel saggio della tossicità, abbreviando il classico processo, mentre la mia ricerca era d'indole preliminare e diretta non alla identificazione, quanto ad avere semplici indizi della presenza o assenza di sostanze tossiche.

---

(1) Prima di tentare questo metodo ho pure provato alcuni solventi che immaginavo adatti, senza ottenere risultati positivi.

La porzione acquosa che era stata separata dall'etere nel 1° trattamento la scaldavo, l'alcalinizzavo, poi la dibattevo ripetute volte con etere solforico, decantavo, e da una parte ponevo in serbo la porzione acquosa separata, dall'altra evaporavo la porzione eterea. Questo secondo estratto etereo ripreso talora con acqua e talora con olio di vaselina lo sperimentavo poi sulle cavie.

In fine la porzione acquosa che aveva servito al suddetto trattamento etereo la scaldavo a bagnomaria per scacciarne le tracce di etere, l'acidificavo con HCl fino a reazione debolmente acida, evaporavo, poi alcalinizzavo lievemente con NH^3, dibattevo con cloroformio, decantavo ed evaporavo quest'ultimo a temperatura ordinaria. Il residuo lo riprendevo con poc'acqua e sperimentavo su cavie, senza curarmi molto dei caratteri chimici degli estratti ottenuti.

Esperimenti. — Gli esperimenti li ho fatti sempre su cavie per via ipodermica. Gli estratti eterei per iniettarli usavo riprenderli, secondo i casi, ora con poca acqua, ora con olio di vaselina ma per lo più còn olio di vaselina: gli estratti cloroformici li iniettavo sempre in soluzione acquosa. La dose adoperata per ogni cavia è stata ogni volta di 2-3 cmc. di soluzione o sospensione nei veicoli citati.

Noto che alcune cavie le quali durante gli esperimenti mi sono morte per infezione sopravvenuta di pseudo-edema maligno non figurano nelle seguenti tabelle riassuntive, essendo che in tali circostanze ho sempre ripetuto la prova.

Il resoconto lo divido in due prospetti, cioè in uno pongo i risultati (negativi) ottenuti cogli estratti ricavati mediante il metodo Stass-Otto, nell'altro quello ottenuto mediante gli estratti acquosi ricavati dalle polente muffite. Questi presentavano tutti reazione più o meno acida.

Prospetto degli esperimenti fatti con estratti liquidi acquosi separati dalla polenta.

SOSTANZA d'esperimento	Dose per via ipodermica — cmc.	Cavie — Peso in gr.	Fenomeni locali	Fenomeni generali	Esito
Polenta muffita di 8 giorni:					
1° Estratto acquoso separato dalla polenta, filtrato per carta.	3	350	Notevole ispessimento locale.	Leggiera paresi	Vissuta
2° Estratto come sopra, ma concentrato a consistenza sciropposa.	2	230	Notevole infiltrato sottocutaneo. - Escara.	—	Id.
Polenta muffita di 11 giorni:					
1° Estratto acquoso separato dalla polenta, filtrato per carta.	3	240	Leggiero ispessimento locale.	Manifesta paresi	Id.
2° Estratto come sopra, ma concentrato a consistenza sciropposa.	2	220	Vasto infiltrato sottocutaneo. - Escara.	—	Id.
Polenta muffita di 22 giorni:					
1° Estratto acquoso separato dalla polenta filtrato per carta.	3	410	Semplice ispessimento locale.	Manifesta paresi	Id.
2° Estratto come sopra, ma concentrato a consistenza sciropposa.	2	320	Forte infiltrato sottocutaneo. - Escara.	—	Id.
Polenta muffita di 30 giorni:					
1° Estratto acquoso separato dalla polenta, filtrata per carta.	3	300	Leggiero ispessimento locale.	Paresi seguita da paralisi.	Morta (*)
2° Estratto come sopra, ma concentrato a consistenza sciropposa.	2	320	Notevole infiltrato sottocutaneo. - Escara.	—	Vissuta

(*) Faccio notare che il reperto necroscopico e l'analisi batteriologica mi assicurarono che non trattavasi di infezione sopraggiunta. L'esito dell'altra cavia inoculata con l'identico liquido ma concentrato a consistenza di sciroppo, mi metteva poi nel sospetto che si trattasse di sostanze volatili o sostanze di labile composizione di fronte al mite calore di 50° a 60° C. — Per avere un indizio utile distillai un poco del suddetto liquido, poi inoculai ad una cavia i primi 3 cmc. del distillato avente carattere di un liquido idro-alcoolico e reazione leggermente acida e questa manifestò rapida paresi e paralisi agli arti posteriori; visse poco più di 48 ore. Alla necroscopia trovai gli organi normali; leggiero infiltrato fibrinoso ed iperemia sul punto di inoculazione. — Dall'altra parte evaporai a secchezza il residuo rimasto sul palloncino, lo ripresi con 2 cmc. di H_2O e l'inoculai sottocute ad una cavia, ma questa sopravvisse.

Prospetto degli esperimenti fatti coi vari estratti ricavati mediante il metodo Stass-Otto da polente muffite (escluse le patine delle muffe).

SOSTANZA d'esperimento	Dose per via ipodermica — cmc.	Cavie — Peso in gr.	Fenomeni locali	Fenomeni generali	Esito
Polenta muffita di 8 giorni:					
1° Residuo dell'evaporazione del 1° soluto etereo, ripreso con olio di vaselina.	3	320	Fenomeni locali di poca o niuna importanza.	Assenza di fenomeni apprezzabili generali.	Vissuta
2° Residuo dell'evaporazione del 2° soluto etereo, ripreso con olio di vaselina.	2	360	Id.	Id.	Id.
3° Residuo dell'evaporazione del cloroformio ripreso con 2 cmc. di acqua.	2	390	Id.	Id.	Id.
Polenta muffita di 11 giorni:					
1° Residuo dell'evaporazione del 1° soluto etereo, ripreso con olio di vaselina.	3	350	Id.	Id.	Id.
2° Residuo dell'evaporazione del 2° soluto etereo, ripreso con olio di vaselina.	2	375	Id.	Id.	Id.
3° Residuo dell'evaporazione del cloroformio ripreso con 2 cmc. di acqua.	2	350	Id.	Id.	Id.
Polenta muffita di 22 giorni:					
1° Residuo dell'evaporazione del 1° soluto etereo, ripreso con olio di vaselina.	3	400	Id.	Id.	Id.
2° Residuo dell'evaporazione del 2° soluto etereo, ripreso con olio di vaselina.	2	380	Id.	Id.	Id.
3° Residuo dell'evaporazione del cloroformio ripreso con 2 cmc. di acqua.	2	420	Id.	Id.	Id.
Polenta muffita di 30 giorni:					
1° Residuo dell'evaporazione del 1° soluto etereo, ripreso con olio di vaselina.	3	315	Id.	Id.	Id.
2° Residuo dell'evaporazione del 2° soluto etereo, ripreso con olio di vaselina.	2	340	Id.	Id.	Id.
3° Residuo dell'evaporazione del cloroformio ripreso con 2 cmc. di acqua.	2	310	Id.	Id.	Id.

Riassumendo: Dai due prospetti risulta che i liquidi acquosi separati dalle polente muffite riescono ben poco tossici quando essi sono stati concentrati a sciroppo su b. m. a 50° C. Mentre riescono un poco più attivi i liquidi acquosi non concentrati, al punto da spiegare un effetto generale sull'organismo, consistente in una specie di paresi che può raggiungere l'intensità della paralisi, e dare perfino la morte. Questi fenomeni sembrano dovuti a sostanze volatili, probabilmente alcool.

Risulta inoltre che nelle quattro polente da me prese in esame, dopo asportate da esse le vegetazioni ifomicetiche, si può escludere la presenza di sostanze tossiche ad azione generale, come alcaloidi e glucosidi.

Tuttavia, ad onta di risultati così diversi da quelli ottenuti dal Lombroso, non credo che i miei esperimenti contradicano con quelli dello stesso autore, in quanto che il diverso risultato certamente va dovuto alla diversità dello stadio e del carattere della fermentazione in cui trovavansi le polente da me prese in esame. Il Lombroso sperimentava su substrati maidici pervenuti alla putrefazione, per cui è ben spiegabile in essi la presenza di sostanze tossiche di natura basica. Le mie ricerche invece riguardano polente muffite con carattere di fermentazione ancora acido, determinato sopratutto da ifomiceti, con insignificante intervento di protei. Certo, qualche influenza sul diverso risultato può essere anche data dallo avere nei miei esperimenti escluse le vegetazioni ifomicetiche.

3° — *Ricerche su maiz umido a varî stadî di ammuffimento.*

Preparazione del maiz ammuffito. — Disposi l'esperimento nel seguente modo: Empii di maiz tre grandi bacinelle di vetro; su ciascuna poi versai acqua di fonte, in modo che il liquido arrivasse a sommergere circa la metà inferiore della massa del granturco. Quindi lasciai scoperte tali bacinelle, a temp. ord., esposte a tutti gli eventuali inquinamenti microbici. Intanto una di queste prove la presi in esame al 9° giorno di ammuffimento, la 2ª al 15° e la 3ª al 20°.

Il maiz muffito in questa guisa, in tutte le tre prove, aveva dato luogo già sull'8° giorno, a rigoglioso sviluppo delle comuni muffe, tra le quali primeggiava il *Penicillum glaucum*, seguivano i *Mucor*, gli *Asperigilli*, il così detto *Oidium albicans*, alcune varietà di *Bothritis*, i Blastomiceti, e parecchi rappresentanti degli Schizomiceti. — Reazione acida. — Odore, sui primi giorni, non spiacevole, in seguito disgustoso.

Preparazione degli estratti. — Separavo lo strato superiore di maiz non sommerso nell'acqua che era la parte ricca di efflorescenze ifo-

micetiche, e poi, mediante la pressa di Buchner a 400 atmosfere, ne ricavavo un liquido, il quale si raccoglieva sempre in due strati: uno superiore, oleoso, e uno inferiore, acquoso. La porzione eleosa aveva sempre cattivo odore di muffito e di rancido, mentre la porzione acquosa inferiore aveva odore alcoolico e acetico misto a qualche altro aroma sui generis. — Reazione acida in tutte le tre prove.

Esperimenti su cavie. — Da una parte ho inoculato per via ipodermica i grassi galleggianti che all'analisi risultavano non solo di grassi neutri, ma sopratutto di acidi grassi. Dall'altra parte ho concentrato le porzioni acquose a 50° C. per liberarle dagli alcool, eteri, ed acidi volatili, poi aggiunta un poco di NH^3 ai rispettivi residui secchi, e ripresili con cloroformio, i residui di evaporazione di questo li ho iniettati in sospensione acquosa.

Faccio notare che la quantità iniettata in forma di sospensione acquosa ogni volta a ciascuna cavia corrispondeva all'estratto ricavato, nel modo surriferito, da oltre 300 gr. di maiz muffito.

Prospetto degli esperimenti fatti con estratti ricavati da maiz muffito.

SOSTANZA d'esperimento	Dose per via ipodermica — cmc.	Cavia — Peso in gr.	Fenomeni locali	Fenomeni generali	Esito
Maiz muffito di 9 giorni:					
1° Porzione oleosa ricavata mediante la pressa di Buchner a 400 atmosfere.	2	380	Difficile assorbimento. Persistente infiltrato locale.	Assenza di fenomeni tossici generali.	Vissuta.
2° Porzione acquosa ricavata come sopra, poi evaporata e ripresa con cloroformio, residui della evaporazione di questo in sospensione acquosa.	3	510	Lieve ispessimento locale.	Id.	Id.
Maiz muffito di 15 giorni:					
1° Porzione oleosa ricavata mediante la pressa di Buchner a 400 atmosfere.	3	430	Difficile assorbimento. Persistente infiltrato locale.	Id.	Id.
2° Porzione acquosa ricavata come sopra, poi ridotta ad estratto cloroformico, l'iniettò in forma di sospensione acquosa.	3	350	Insignificanti disturbi locali.	Id.	Id.
Maiz muffito di 20 giorni:					
1° Porzione oleosa ricavata mediante la pressa di Buchner a 400 atmosfere.	2	390	Diffiicile assorbimento. Persistente infiltrato locale.	Id.	Id.
2° Porzione acquosa ricavata come sopra, poi ridotta ad estratto cloroformico, l'iniettoin forma di sospensione acquosa.	3	470	Leggiero ispessimento locale.	Id.	Id.

Riassumendo, *posso dire che nei substrati maidici muffiti (ma non putrefatti) privati delle patine o efflorescenze ifomicetiche, non ho rinvenute sostanze tossiche di natura basica nè glucosidica. Di sostanze ad azione tossica generale sono soltanto in campo tracce di alcool. Ma l'alcool non può essere la causa efficiente della pellagra.*

CAPITOLO III.

Colture pure dei principali ifomiceti invasori del maiz e indagini sulla tossicità dei rispettivi substrati (escluse le efflorescenze ifomicetiche).

Ifomiceti studiati.

Le ricerche della tossicità nelle colture pure di singoli ifomiceti sono state fatte da parecchi autori, però un esame frazionato dapprima sui terreni colturali soltanto, e poi sulle efflorescenze ifomicetiche, non so se sia stato fatto. Soltanto il Gosio (1) e il Ferrati (2), con rigore chimico e batteriologico, presero, non è molto, a fare indagini sulle sostanze tossiche del *Penicillum glaucum,* e ricercarono, fra l'altro, la tossicità nel semplice liquido di coltura del detto Penicillo, rinvenendo i ben noti fenoli. Gli altri autori sembra che abbiano preso in esame lo insieme colturale costituito dal substrato e relative vegetazioni.

Io mi proposi conoscere due cose ben distinte: 1° Se nei substrati dove vegetarono le comuni muffe del maiz si rinvengano sostanze tossiche, degne d'essere prese in considerazione quali cause immediate della pellagra; 2° Se importanti sostanze tossiche esistano in seno alle efflorescenze ifomicetiche.

Intanto occorreva stabilire quali erano le muffe più degne di essere prese in esame, e inoltre ideare pel saggio della loro tossicità qualche metodo spiccio che costituisse un buon mezzo di esperimento sommario fisio-tossico. Quanto al saggio preliminare della tossicità stabilii abolire gli estratti e somministrare le sostanze in esame alle cavie, solo per via gastrica, a dosi generose, per tre giorni consecutivi. Quanto alle muffe da sperimentare ne scelsi

(1) *Sull'azione fisiologica dei veleni del maiz invaso da alcuni ifomiceti.* Roma, 1896.

(2) E. Ferrati. *Alcune ricerche sulla tossicità del maiz invaso da Penicillum glaucum.* Policlinico, 1° settembre 1900.

alcune dalle *Mucedinee*, altre dalle *Asperigillee* e dalle *Bothritis*, cui pure aggiunsi il così detto *Oidium albicans*. — Eccone i rispettivi nomi:

Mucor stolonifer	*Asperigillus glaucus*
Mucor mucedo	*Asperigillus flavescens*
Mucor racemosus	*Asperigillus niger*
Oidium albicans	*Asperigillus fumigatus*
Bothritis, varietà rosea	*Penicillum brevicaule*
Bothritis, varietà biancastra	*Penicillum candidum*
Bothritis, varietà verde	*Penicillum glaucum, 6 varietà.*
Bothritis, varietà bruna	

Allestimento delle colture pure.

Le colture le ho fatte tutte in substrati maidici, però distinti in due ordini:

1° colture pure dei singoli ifomiceti in maiz sterilizzato ed umido;

2° colture pure dei singoli ifomiceti su infusi di maiz.

Tanto le colture sul maiz intero, quanto quelle su infusi, le facevo in fiaschi da due litri ripieni per circa la metà dei detti substrati,

Gl'infusi preparati nei detti fiaschi contenevano, oltre il liquido, puro il maiz che aveva servito per gl'infusi stessi.

Gl'ifomiceti che vi seminavo erano stati tutti isolati dal maiz guasto, e trapiantato in provette contenente, invece che agar, maiz umido sterilizzato.

Le colture con cui sperimentavo non erano mai più giovani di otto giorni nè più vecchie di 20; ciò per quanto concerne le indagini riportate nel presente capitolo.

Esperimenti su cavie e su conigli per via gastrica.

1° Esperimenti con culture su maiz intero. Quando queste colture erano giunte a completo sviluppo (8-20 giorni) non facevo che, man mano, vuotarle in una bacinella, e ivi con pazienza scegliere una data quantità di cariossidi, spogliarle d'ogni traccia macroscopica di vegetazione ifomicetica e così pulite somministrarle per via gastrica a cavie e conigli (1) nella quantità di circa

(1) Le cavie e i conigli, come è noto, ben difficilmente mangiano di spontanea volontà le sostanze alimentari molto alterate da muffe: io però riuscivo a far loro ingerire forzatamente, in pochi minuti notevoli quantità di sostanze d'esperimento introducendole loro a poco a poco in bocca e impedendo che le rigettassero, per cui erano costretti a masticare e ingoiare. Quanto a questo metodo di somministrazione non credo necessario aggiungere dettagli, solamente dico che con tale metodo riuscivo a far ingerire non solo sostanze solide, ma anche liquide; in quest'ultimo caso però mi servivo di una comune siringa portante in cima, invece dell'ago, un tubetto di gomma lungo circa 4 centimetri. Con questa a poco a poco iniettavo il liquido nella cavità orale dell'animale, nel mentre che colla punta del tubetto provocavo sul palato e nelle fauci la deglutizione.

Preferivo questo metodo perchè mi metteva in grado di compiere l'operazione senza sonde, senza apparecchi, senza aiutanti, e senza rischio di traumi verso l'animale.

15 gm. per ogni somministrazione alle cavie, e 30 gm. ai conigli, due somministrazioni al giorno, per tre giorni consecutivi.

2. **Esperimenti con colture su infusi di maiz.** Queste colture pervenute a completo sviluppo, usavo anzitutto privarle della rigogliosa patina ifomicetica mediante un adatto uncino col quale a poco a poco le traevo fuori del fiasco senza che notevoli quantità di spore avessero a sfuggire. Poi il liquido decantato, senza neppur filtrarlo, lo evaporavo su di un largo piatto alla temperatura di circa 50 C. fino quasi a secchezza. Questo residuo poi lo somministravo senz'altro trattamento a cavie e conigli. In ogni somministrazione usavo dare a ciascun animale il residuo ottenuto da tutto il liquido di un fiasco.

Riassumendo in poche parole i risultati ottenuti dirò, che *i substrati colturali maidici, sia liquidi sia solidi, ove vegetarono in colture pure i surriferiti ifomiceti, non dettero segni di alcun apprezzabile potere tossico sulle cavie e sui conigli ad onta delle alte dosi somministrate loro per tre giorni di seguito. Ciò vuol dire che le suddette muffe non hanno attitudine alla produzione di veleni fissi, solubili nell'acqua o diffusibili ai mezzi colturali.*

CAPITOLO IV.

Colture pure dei principali ifomiceti che si rinvengono nel maiz e indagini sulla tossicità delle rispettive efflorescenze (esclusi i substrati).

Ricerche già fatte.

Trent'anni or sono il Lombroso — pur convinto che la tossicità nel maiz guasto non dipendesse direttamente da vegetazioni ifomicetiche, ma da veleni secondari dalle medesime provocati — fece alcune ricerche fisio-tossiche dirette sulle efflorescenze, anzi sulle spore del *Penicillnm glaucum* (1). Le sperimentò per via gastrica sui topi e su tre persone, non solo, ma con ammirevole abnegazione anche su se stesso (via ipodermica, 20 centigrammi). Però non ottenne da alcuno di tali esperimenti effetti tossici, onde ebbe a persuadersi dell'innocuità del *Penicillum glaucum*.

Non so se altri autori abbiano fatto simili indagini per la ricerca del potere tossico nel contenuto dei corpi ifomicetici. So invece di parecchi autori che hanno studiato sotto questo punto di vista i corpi schizomicetici somministrati per via gastrica.

---

(1) C. Lombroso. Loc. cit.

Su questa via poco battuta mi sono diretto col proposito di sperimentare, sempre per via gastrica e a dosi generose su cavie e conigli, le patine o efflorescenze di tutti gl'ifomiceti che più di frequente ho rinvenuto nel maiz guasto. Vi sono stato spinto oltre che dall'ordine di ricerca impostomi fin da principio, anche dai risultati negativi che ho fin qui ottenuti sui semplici substrati ovo vegetarono le muffe che ho prese in esame; risultati che mi facevano nascere forte sospetto che cioè i veleni maidici pellagrogeni non fossero, secondo la teoria del Lombroso, derivanti dalla trasformazione chimica e molecolare del maiz sotto l'influenza di microrganismi, ma fossero piuttosto un prodotto di sintesi che si origina e rimane celato in seno agli elementi anatomici di qualche ifomiceta quale materiale necessario ai fenomeni della sua vegetazione.

Allestimento delle colture pure.

Mosso da tali idee, il mio primo pensiero è stato di allestire le colture.

E per quest'ordine di ricerche ho preferito servirmi, qual mezzo colturale, soltanto del maiz sterilizzato, intero e umido, posto in fiaschi da due litri; perchè così non solo avevo un substrato economico ed eccellente, ma, a mezzo delle cariossidi, avevo una somma di tanti piccoli spazi equivalenti ad una vasta superficie utile per lo sviluppo delle vegetazioni ifomicetiche. Riempivo questi fiaschi per circa un terzo con maiz, poi aggiungevo tant'acqua di fonte da bastare ad un'ora di ebollizione o poco più. In modo che così sterilizzato il maiz appariva umido, e soltanto poche cariossidi nel fondo si vedevano sommerse in 50-100 cmc. di acqua.

Assicuratomi della bontà del mezzo ideato, cominciai l'allestimento delle colture pure, tutte a temperatura ordinaria, eccettuato l'*Asperigillus niger,* l'*Asperigillus flavus* e l'*Asperigillus fumigatus.*

Dopo gli otto giorni, quando lo sviluppo di ciascun ifomiceto pareva completo, procedevo alla separazione di tutta la vegetazione ifomicetica del maiz, e per far ciò ecco la tecnica da me seguita: versavo nel fiasco circa 100 cmc. di acqua o poco più, secondo i casi, poi dibatevo fino a che le spore e gli altri elementi ifomicetici non si mostravano completamente bagnati; a questo punto facevo scolare in un filtro tutta la parte liquida la quale trascinava così gran parte delle spore e un po' anche degli altri elementi ifomicetici. Serbavo da parte il filtrato di cui mi servivo come dirò appresso,

mentre la poltiglia rimasta sul filtro era pronta per la somministrazione a cavie e conigli. Dall'altra parte il residuo di mais e vegetazioni rimaste sul fiasco le versavo in una bacinella, ove con pazienza spogliavo tutte le cariossidi dalle patine rimaste ad esse aderenti. Queste patine, in tale stato, riunite a quelle raccolte dal filtro, erano pronte per gli esperimenti. Ne somministravo ogni volta circa 10-15 gm. per cavia, e 20-30 gm. per coniglio, facendo due somministrazioni al giorno per tre giorni consecutivi.

Questo metodo però avrebbe potuto far sorgere il dubbio che nel trattamento delle patine con acqua, dato il caso dell'esistenza in esse, per esempio, nell'interno dei micelii e delle spore, di un veleno diffusibile, questo fosse passato nell'acqua e disperso. A ciò provvidi raccogliendo volta per volta quest'acqua di lavaggio delle patine filtrata, poi concentrandola quasi a secchezza a 50° C, somministrandola a cavie per via gastrica. A ciascuna cavia solevo dare in una sola volta l'intero residuo ottenuto dall'evaporazione dell'acqua che occorre per un fiasco di coltura pura.

Senza dilungarmi in prospetti, riassumo in due parole i risultati ottenuti con la somministrazione di queste acque di lavaggio dei vari ifomiceti che ho preso in esame, cioè: *tutte queste acque di lavaggio sperimentate nel modo e nella quantità surriferita, su cavie di media grossezza, non hanno mai dato luogo al più lieve fenomeno di intossicazione.*

Nel seguente prospetto sono riassunti i risultati ottenuti con la somministrazione delle patine, nel modo suddetto, a cavie e conigli.

Prospetto dei risultati ottenuti somministrando per via gastrica a cavie e conigli le semplici efflorescenze di singoli ifomiceti.

IFOMICETI	1° Giorno						2° Giorno						3° Giorno					
	Coniglio			Cavia			Coniglio			Cavia			Coniglio			Cavia		
	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in ge.	Effetto
Mucor stolonifer	18	20	Nulla	12	15	Nulla	20	25	Nulla	10	15	Nulla	22	20	Nulla	15	14	Nulla
Mucor mucedo	22	15	»	10	10	»	24	22	»	12	10	»	20	23	»	12	10	»
Mucor racemosus	20	20	»	13	12	»	19	23	»	11	9	»	21	20	»	12	12	»
Oidium albicans	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
Bothritis varietà rosea . . .	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
Bothritis varietà biancastra .	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
Bothritis varietà verde. . .	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
Bothritis varietà bruna . .	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
Asperigillus glaucus. . . .	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
Asperigillus flavus	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»

IFOMICETI	1° Giorno						2° Giorno						3° Giorno					
	Coniglio			Cavia			Coniglio			Cavia			Coniglio			Cavia		
	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr.	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto	1ª somministrazione — Dose in gr	2ª somministrazione — Dose in gr.	Effetto
Asperigillus niger.	30	30	Nulla	15	15	Nulla	30	30	Nulla	15	15	Nulla	30	30	Nulla	15	15	Nulla
Asperigillus fumigatus. . .	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
Penicillum brevicaule . . .	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
Penicillum candidum . . .	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
Penicillum glaucum:																		
varietà *A*	30	—	Morto	15	—	Morta	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
varietà *B*	30	30	Nulla	15	15	Nulla	30	30	Nulla	15	15	Nulla	30	30	Nulla	15	15	Nulla
varietà *C*	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
varietà *D*	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
varietà *E*	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»
varietà *F*	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»	30	30	»	15	15	»

Dalle indagini surriferite appare evidente che fra tutti gl' ifomiceti che ho sperimentati una sola varietà di *Penicillum glaucum* è stata quella che ha dato delle patine tossiche (1).

Taglio corto per ora su diverse indagini che pensavo fare su altri microrganismi, e rivolgo tutto il mio studio su questo penicillo.

E anzitutto ripeto l'esperimento con efflorescenze di colture pure non solo sulla cavia e sul coniglio, ma anche sul cane, sul gatto e sul pollo, prendendo nota dei principali fenomeni tossici, come base dello studio che intendo proseguire.

Ecco gli esperimenti e i risultati ottenuti nelle forme di

Avvelenamento acuto (2).

1° Esperimento. — Cane robustissimo. Peso kg. 10; Temp. 39,2 - Resp. 22. Puls. 120.

Ore 8. Gli somministro 5 gr. di patine asciutte di Penicillum glaucum bene sporificato, puro, di 8 giorni, impastate con un poco di grasso, il tutto poi ripartito e spalmato su crostini di pane che l'animale mangiò avidamente.

Per l'apparire dei primi fenomeni tossici di qualche importanza passano circa due ore. Però anche dopo un'ora poteva notarsi qualche prodromo: una insolita irrequietezza e qualche sbadiglio. Ma è verso la seconda ora dalla somministrazione, che quasi di botto si rendono manifesti i primi fenomeni tossici: tremori su tutto il corpo specialmente agli arti anteriori, tremori continui ad oscillazioni non tanto brevi. Emette feci dure per tre volte consecutive.

---

(1) Durante le mie ricerche batteriologiche sul maiz guasto ogni qualvolta incontravo colonie di penicilli, le isolavo facendone colture pure. In breve ebbi frà le mani parecchie varietà di penicilli e specialmente di penicilli verdi. Questi frattanto li designavo durante gli esperimenti col termine collettivo di *penicillum glaucum*, e marcavo le rispettive colture di ciascuna varietà con segni convenzionali, in attesa di poter venire quanto prima ad uno studio accurato delle principali proprietà colturali, ed identificarli. Gli autori già parlano di parecchi penicilli verdi. Il Saccardo ne cita una diecina.

Ora scoperta l'importanza tossicologica di una varietà di questi penicilli verdi, ne consegue il dovere non solo di rivedere tutto questo gruppo a tenore delle esigenze batteriologiche odierne, ma di determinare in base ai caratteri colturali, se il penicillo tossico è un'individualità già descritta da altri o no. A quest'ultima ricerca mi sono dedicato da qualche tempo; ma essendo l'indagine piuttosto lunga e delicata, non posso pel momento riferire su tale soggetto, e sono costretto a farne una pubblicazione a parte, che verrà alla luce fra breve.

Intanto avverto che nei seguenti capitoli, fino a che non ho assodato le suddette ricerche, col nome di penicillum glaucum voglio sempre intendere la varietà tossica rinvenuta.

(2) Nel capitolo VII sono poi riferiti alcuni tentativi di intossicazione lenta.

Ore 11 vomita per la prima volta gran parte della sostanza dinanzi ingerita. Comparisce una leggiera salivazione. Dopo pochi minuti vomita per la seconda volta una sostanza fluida verdastra. Un poco di saliva cola dal labbro. Si vede la mandibola inferiore affetta da lievi spasmi clonici. Trema tutto. È difficile rilevare la direzione delle scosse, perchè esse ora sembrano quasi prevalenti nel senso antero-posteriore, ora nel senso laterale. Oltre il tremore vi ha un continuo vacillamento di tutto il corpo dell'animale. I muscoli che più si mostrano affetti da spasmi sono quelli del collo, poi seguono quelli degli arti anteriori indi quelli posteriori, e finalmente i toracici. I masseteri sono pure alquanto attaccati, di qui il fenomeno sopra citato del tremore alla mandibola, interrotto talora dal chiudere della bocca.

Ore 11 $^1/_4$. È persistente la salivazione. L'equilibrio manca al cane che non può più reggersi in piedi, e vacilla confusamente ora nel senso antero-posteriore, ora nel senso laterale. Vorrebbe adagiarsi, ma comincia a fare i movimenti a poco a poco, tremante, quasi timoroso di cadere tende a divaricare le gambe forse coll'istinto di allargare la sua base di sostegno, e ancora non si azzarda di cullarsi a terra: si direbbe che è incapace di coordinare i voluti movimenti.

Mentre è in questa incertezza, vomita per la terza volta. Poco dopo barcollante finisce coll'adagiarsi al suolo. In tale posizione si nota che gli spasmi sono manifesti soltanto sui muscoli del collo, per cui si ha un moto quasi oscillatorio continuo del capo. Qui, poichè tiene la bocca chiusa e il muso poggiato sulle gambe, manca pure il saltellamento della mandibola. Il saltellamento (spasmo fibrillare) è però ben manifesto sulla regione anteriore e laterale tanto destra che sinistra del collo.

Ore 11 $^1/_2$: vomita per la quarta volta una sostanza fluida, mucosa, verdastra. Intanto lo spingo a rialzarsi sulle quattro gambe per meglio osservarlo in tale posizione. Noto che i tremori si diffondono in special modo dalle principali articolazioni (coxo-femorale, scapolo-omerale e regione lombare). Queste sembrano, insieme alle regioni del collo, come tanti centri donde si irradiano gli spasmi clonici, che si mantengono finora continui, ritmici, solo interrotti da qualche atto volitivo. Il cane è evidentemente molto abbattuto, si regge appena. Ogni qualvolta apre la bocca, torna ad essere manifesto il saltellamento della mandibola. L'occhio e le palpebre non presentano nulla di notevole, solo vi si legge la paura onde è invaso l'animale. Poco dopo il cane barcollante si culla nuovamente a terra, ove non presenta che gli stessi fenomeni sopra riferiti.

A questo punto la temp. è 39° C. Difficile è il prendere nota esatta del numero dei respiri e pulsazioni a motivo degli spasmi.

Alle ore 16 riosservato l'animale, trovo i fenomeni tossici notevolmente alleggeriti: fatto rialzare il cane, esso si tiene meglio sulle gambe, i tremori sono ovunque diminuiti d'intensità. Scomparsa la salivazione. Persiste l'andatura barcollante. Il miglioramento si accentua man mano, tanto che, a sera, ogni fenomeno tossico appare scomparso.

Qui credo utile fare osservare:

1° Che la dose somministrata al cane forse avrebbe spiegato sintomi più gravi se non fosse sopraggiunto il vomito fin dall'inizio dell'intossicazione per cui suppongo che presso a poco la

minima dose tossica sia in realtà inferiore a quella da me somministrata.

2° Che il mio cane oltre la risorsa del vomito nell'esperimento surriferito, ha mostrato nei giorni seguenti un'altra risorsa che mi ha impedito di ripetere su di esso lo stesso esperimento, cioè la risorsa dell'olfatto; per cui ha costantemente rifiutato i più ghiotti bocconi entro i quali avevo impastato patine penicillari. Nè valse per indurlo ad ingoiare tali bocconi il protratto digiuno a cui a bella posta lo sottoponevo, nè l'astuzia di offrigli prima qualche ghiottoneria senza penicillo, tanto da ispirargli sicurezza, e poi subito un altro boccone somigliante contenente penicillo.

2° Esperimento. — Gatto ben nutrito. Peso gr. 800.

Ore 14. Con mezzi coercitivi riesco a fargli ingerire circa 5 grammi di patine penicillari ricche di spore essiccate.

Dopo mezz'ora ecco i primi sintomi: Tremori incalzanti, veri spasmi clonici su tutto il corpo, andatura atassico-spastica, irrequietezza. È pur notevole che nel posare i piedi a terra fa dei movimenti come che il suolo gli scottasse. Segue di lì a poco una manifesta paresi, e, entro un'ora dalla somministrazione, il gatto va barcollante, in fine cade a terra. Giace disteso prevalentemente sul fianco destro. Emette feci dure dopo brevi ed energici conati. Ha gli occhi aperti e lagrimosi, la pupilla non molto dilatata; notevole salivazione.

Persistono i violenti tremori in specie al collo e agli arti anteriori.

Il respiro è frequente e profondo,

Ore 16. Mentre è così disteso per terra, miagola dapprima con voce cupa, poco dopo con voce fievole e sempre più afona. Persiste la salivazione. Vomita una piccolissima porzione della sostanza ingerita. Poi emette ancora feci dure e non molto dopo feci diarroiche.

In questa intossicazione acuta il fenomeno più caratteristico è dato dapprima dai tremori; indi segue per importanza la paresi degli arti; nel periodo seguente che corrisponde all'acme delle manifestazioni, è la paresi degli arti ancor più accentuata e accompagnata ad un evidente stato spastico delle masse muscolari per cui ne consegue un'andatura paretico-spastica.

Qui il massimo di intensità dei sintomi si è notato circa tre ore dalla somministrazione. Però anche dopo sette ore persistevano gli stessi sintomi.

Al domani trovo il gatto per terra nel medesimo stato; non mangia, non beve. Rimane ancora così fino a sera. Al mattino seguente presentasi alquanto migliorato; tenta rialzarsi, ma appena in piedi, corre in modo curioso e va a cadere due o tre metri distante, ora urtando violentemente contro il muro, ora contro qualche mobile; pare in preda a vertigine; in ogni modo nell'andatura vi ha dell'atassia. Un momento che era aperto il davanzale della finestra sul balcone, il gatto corre disordinatamente in quella direzione e precipita sulla strada (3 metri di altezza). Ripreso, seguitò a presentare i più spiccati segni di mancanza di coordinazione nei movimenti della deambulazione.

In tale stato gli appresto un pezzo di carne, esso smanioso cerca di af-

ferrarlo, ma i tremori e l'impossibilità di coordinare opportunamente i movimenti, gl'impediscono di addentarlo. Parimenti presentandogli una tazza di acqua mostrasi assetato, ma non può orientarsi, non può portare il muso là dove occorre, là dove vuole; infatti, anche sostenuto da me, ora eccede in avanti e tuffa il muso nell'acqua, ora non vi arriva, insomma non può bere.

Il respiro non ha più un vero carattere dispnoico, rimane solo un poco frequente.

Le pulsazioni cardiache sembrano normali.

In considerazione della tendenza che il gatto presenta di tanto in tanto a levarsi e spiccare una corsa disordinata in modo da urtare violentemente su ciò che incontra, poichè incapace ad evitare ostacoli o pericoli, lo metto al sicuro entro una gabbia, ove se ne sta per lo più sdraiato su di un fianco, altre volte tenta rialzarsi e tenersi poggiato ad una parete della gabbia stessa.

Tale era lo stato del gatto sulla fine del terzo giorno dalla somministrazione.

Sul mattino del quarto giorno riesco a fargli mangiare un poco di carne e bere un poco d'acqua. Persistevano, benchè meno intensi, i tremori, la paresi, la tonicità dei ventri muscolari e l'andatura incoordinata surriferita.

Al quinto giorno può camminare, però va barcollante. Torna ad essere visibile quel fenomeno osservato in principio, e cioè che spesso nel camminare nell'atto di sollevare i piedi li scuote in aria, come per sbarazzarsi di qualche cosa che offende le piante dei piedi (disturbo della sensibilità tattile?). Mangia e beve voracemente, ma con qualche difficoltà a motivo dei persistenti spasmi. L'occhio destro presentasi da due giorni sempre lagrimoso.

Nei giorni susseguenti il gatto va man mano rimettendosi, tuttavia una completa guarigione non è mai avvenuta, neppure fino ad oggi, cioè dopo due mesi dalla somministrazione del penicillo; gli rimane il tremore al collo, presenta pure l'occhio destro sempre lagrimoso; l'andatura non lascia però più scorgere delle anormalità apprezzabili.

3° Esperimento. — Coniglio. Peso gr. 700. Temp. 39, 5.

Ore 8. Gli somministro per via gastrica 3 gr. di patine di penicillum glaucum quasi secche. Temp. dopo un'ora 38, 8; dopo 2 ore 39. 1.

I primi fenomeni tossici compaiono dopo mezz'ora dall'ingestione delle patine. Tremori diffusi specialmente sugli arti anteriori e anche sui posteriori, vacillamenti di tutto il corpo, incertezza nel camminare, barcollamenti. Questi effetti durano circa quattro ore, poi si fanno impercettibili.

Il giorno seguente ogni fenomeno tossico pare scomparso. Presenta solo ambedue le palpebre chiuse e cementate da molto muco, le pupille alquanto ristrette.

Ore 8. Temp. 39, 4; respiro e pulsazioni cardiache normali. In tale stato gli somministro pure per via gastrica 4 gr. di patine di *Penicillum glaucum* secche al solo come quelle del giorno avanti. Temp. dopo un'ora 38, 9; dopo 5 ore 38, 1. I primi sintomi compaiono dopo un'ora; esordiscono con un lieve tremore, associato ad una specie di oscillazione di tutto il corpo iniziantesi dagli arti posteriori. Cammina con incertezza e fa movimenti coi piedi come che questi scivolassero lateralmente.

Dopo 3 ore il coniglio non può più camminare. È ben manifesta la paresi a sinistra, si culla al suolo ove giace sul fianco sinistro. Messo sul fianco destro torna a rivoltarsi e cadere sul fianco sinistro ostinatamente. Non abbassa il muso, lo tiene in linea orizzontale con la schiena. Talora prova a rialzarsi e spiccare una corsa, ma presto cade con le gambe posteriori distese all'indietro e divaricate, le anteriori distese in avanti. Ambedue le orecchie tendono a star piegate verso sinistra. È manifesta la paresi degli arti specialmente posteriori. È poi notevole che mentre poco fa tendeva a cadere sul fianco sinistro, ora (dopo un'ora all'incirca) ha tendenza a cadere sul fianco destro. Si manifesta pure una certa rigidità dei muscoli della nuca, per cui flette alquanto la testa all'indietro, ma non con tensione tetanica. Domina la paresi, quasi paralisi. Poco sono evidenti i tremori. Segue l'impossibilità di reggersi sulle gambe. Di quando in quando spicca improvvisamente qualche salto. Tenta di correre, ma tosto cade, ora più spesso a sinistra, altre volte anche a destra. Quando divarica le gambe, l'atto è evidentemente dovuto a paresi e non a movimento attivo. Il tono muscolare è abbastanza buono. Gli arti posteriori permangono alquanto tesi all'indietro, e nel tempo stesso alquanto retratti. La tensione delle coscie si esplica anche in modo che il femore col suo capo articolare pare fisso all'anca e non mobile come al normale. Talora all'improvviso spicca un salto in avanti; talora fa capitomboli all'indietro. Qualche volta, non di rado, presenta qualche spasmo tonico sulla nuca e sul dorso in forma di lieve contrattura di quei muscoli.

In tale stadio la temperatura è 38. 1.

Spicca la grande sproporzione tra i sintomi ottenuti il giorno antecedente con tre gm. di patine, e quelli ottenuti il dì seguente con 4 gm. delle identiche patine.

La mattina del 3° giorno trovo il coniglio completamente paralizzato. Giace a terra; ha gli occhi socchiusi per manifesta ptosi; respiro calmo; di tanto in tanto ha qualche leggiero spasmo clonico. Tenta muoversi come per cambiar posto. Altre volte si solleva sulle quattro gambe come per stirarsi, poi, a poco a poco, poggiato alla parete della gabbia si riabbassa. In tale stato la temperatura è di 35. 5. L'ipotermia e la paralisi sono i sintomi ora più salienti. Qualche volta biascica e fa scricchiolare i denti, accompagnando tale biascicamento con movimenti disordinati delle gambe. Talora fa un leggiero arco all'indietro. Le labbra sono rosse di un rosso vivo.

La mattina del 4° giorno lo trovo morto.

Necroscopia. — Colorito delle carni normale. Sangue ben coagulato. Cuore pieno. Peritoneo, fegato, milza, rene, polmone e cavità pleuriche normali. Lo stomaco però presenta i segni di un intenso catarro. Tra il muco si vedono ancora dei grumi contenenti spore penicillari. Sulla porzione pilorica è bene evidente un notevole infiltrato diffuso. Le meningi spinali e cerebrali si presentano alquanto iperemiche. Il sangue risulta sterile all'esame batteriologico.

4° Esperimento. — Cavia. Peso gm. 475. Temperatura 38 C.

Ore 8, le somministro per via gastrica 3 gm. di Penicillum glaucum quasi secche al sole.

Dopo un'ora, la temperatura è di 38.2; si manifestano i primi sintomi: tremori diffusi a tutto il corpo, e specialmente agli arti anteriori. Notevole sbalordimento. Dopo 4 ore si percepisce una leggiera paresi agli arti posteriori. Piega per lo più il corpo a destra. Non può tenere fermi i piedi, ma li lascia di continuo scivolare lateralmente in preda a tremori. Mostra una grande sensibilità cutanea. Appetito buono. Questi fenomeni durano circa sei ore, poi si vanno dileguando.

Il mattino seguente pesa gm. 445, temperatura 38.1. In tale stato le somministro (ore 8) una dose di patine penicillari identica a quella del giorno precedente.

Dopo un'ora temperatura 38.3. Poco dopo ricompaiono gli stessi sintomi surriferiti del giorno precedente, che durano però tutta la giornata. Inoltre presenta incontinenza delle urine. Mancanza manifesta dell'equilibrio. Oscilla per lo più nel senso antero-posteriore. Verso sera la cavia appare molto abbattuta.

Il mattino seguente pesa gm. 440, temperatura 37.9, non fa altro che oscillare nel senso antero-posteriore e un po' anche lateralmente. Scivola coi piedi, specialmente anteriori, in tutti i sensi, e scivolando cade ora di qua ora di là.

Manca in alto grado la coordinazione nei movimenti, come pure l'equilibrio; ricorda il movimento di una navicella che è perplessa in tutti i sensi dall'onda e accenna a capovolgersi or di qua or di là. Noto che chiudendo gli occhi alla cavia, cessano in quel mentre le oscillazioni e i tremori, per ricomparire tosto appena le si fanno riaprire gli occhi. Presentandole una fetta di mela mostra intenzione di mangiarla, ma come presa da più violente oscillazioni non azzecca ad addentarla. Spingendola a camminare, si dimena ora di qua ora di là col treno posteriore, altre volte si rovescia addirittura. Verso sera questi fenomeni non si erano affatto dileguati.

Il mattino seguente però la cavia si mostra in via di miglioramento, tanto che dopo due giorni non presenta più sintomi d'intossicazione.

5° Esperimento. — Pollo, peso gm. 750.

Gli somministro (via gastrica) gm. 3 di patine di *Penicillum glaucum* disseccate al sole in tutto identiche a quelle adoperate nei precedenti esperimenti.

Passa un'ora senza comparire alcun effetto tossico, perciò glie ne somministro 6 grammi. Nessun effetto tossico.

Passata ancora un'ora gliene somministro 10 grammi. Nessun effetto tossico.

Scorse due ore glie ne somministro 20 grammi. Nessun effetto tossico. A questo punto vedendo che il pollo era proprio refrattario al *Penicillum glaucum* ho desistito dal fare altre somministrazioni.

Veramente dubitavo che l'effetto tossico non si verificasse sul tardi, ma constatai che nè quel giorno nè nei giorni seguenti il pollo ebbe disturbi percettibili.

Riassumendo: *È certo che nelle patine di « Penicillum glaucum » esiste una sostanza tossica non constatata fin qui da alcun autore,*

la quale (1) *ordinariamente non passa nei terreni colturali, ma rimane in seno agli elementi che costituiscono la vegetazione ifomicetica; sostanza che può produrre una intossicazione acuta con fenomeni assolutamente caratteristici nei cani, nei gatti, nei conigli e nelle cavie.*

CAPITOLO V.

Alcune ricerche sulla tossicità del « Penicillum glaucum ».

1. *Momento in cui la tossicità compare sulle vegetazioni di « Penicillum glaucum ».*

Preparai 7 colture pure di *Penicillum glaucum* su maiz umido e le posi a svilupparе alla temperatura di circa 20 C.

Poi, per conoscere in qual momento compare la tossicità nelle dette colture, procedetti come segue: sperimentai la 1ª coltura dopo 36 ore di sviluppo, la 2ª dopo 48 ore, la 3ª dopo 3 giorni, la 4ª dopo 4 giorni, la 5ª dopo 5 giorni, la 6ª dopo 15 giorni, la 7ª dopo 30 giorni; ed in fine saggiai pure una coltura di 4 mesi.

Nella seguente tabella sono riassunti gli esperimenti fatti e i risultati ottenuti.

---

(1) Il quadro tossico poi che è dato dalla pellagrozeina o dagli altri due veleni che il Lombroso estrasse dal mais guasto è diverso da quello caratteristico prodotto dal mio penicillo. Vedremo in seguito come anche i caratteri chimici dei veleni del Lombroso sono del tutto diversi da quelli della sostanza attiva da me isolata.

Prospetto indicante gli esperimenti fatti per conoscere presso a poco il momento in cui la tossicità compare sulle vegetazioni di Penicillum glaucum.

Numero d'ordine	Età della coltura di *Penicillum glaucum* al momento in cui fu sperimentata	Grado di sviluppo al momento in cui la coltura fu sperimentata	Quantità di patine somministrate — grammi	Animale che servì per l'esperimento — Cavia Peso in grammi	Effetto
1	36 ore	Patina sottile bianca senza tracce di spore.	4	200	Nessun effetto tossico.
2	48 ore	Patina di notevole spessore, ma senza tracce di spore.	4	310	Nessun effetto tossico.
3	3 giorni	Sporificazione bene avviata	4	290	Dopo 2 ore, lievi spasmi clonici degli arti anteriori che hanno durato circa 3 ore.
4	4 giorni	Sporificazione in progresso.	4	370	Dopo un'ora circa, notevoli spasmi clonici in forma di intenso tremore sugli arti anteriori e posteriori che hanno durato oltre mezza giornata.
5	5 giorni	Sporificazione in pieno sviluppo.	4	350	In meno di un'ora, tremore a tutto il corpo, mancanza di equilibrio; spasmi clonici prevalenti sugli arti anteriori.
6	15 giorni	Sporificazione che pare completa.	4	375	Idem come sopra, però qui si nota in più che la mancanza di equilibrio raggiunge tale intensità che la cavia spesso si rovescia ora di qua e ora di là.
7	30 giorni	Le abbondanti spore hanno assunto un colorito alquanto sbiadito.	4	350	Id.
8	4 mesi	Il bel verde delle spore si è fatto quasi cinereo.	4	395	Id.

Risulta da questi esperimenti:

1. *Che la tossicità non compare nelle patine di « Penicillum glaucum » prima del terzo giorno di coltura (inizio di sporificazione).*

2. *Che dal terzo giorno fin verso il quinto la tossicità è in aumento, raggiungendo un massimo verso il 15° giorno, e rimanendo quasi invariabile in seguito.*

2. *Ricerca per conoscere se la tossicità nelle patine di « penicillum glaucum » dipenda dalle spore o dai micelii.*

Gli esperimenti precedenti, dai quali emerge che la tossicità compare nelle colture di *penicillum glaucum* col comparire delle spore, rendevano ammissibile l'ipotesi che la sostanza tossica si annidasse proprio nelle spore. Volli quindi assicurarmi della vera sede del veleno penicillare — molto più che ora in virtù delle surriferite indagini non è più il caso di pensare a veleno libero nel substrato — e stabilire se il detto veleno è contenuto realmente nelle spore, ovvero nei micelii, o in entrambi. Disposi l'esperimento nell'ordine seguente:

1° *Separazione delle spore dai micelii* (1).
2° *Esperimento su cavie con spore private di micelii.*
3° *Esperimento su cavie con micelii privati di spore.*

Intanto per separare le spore mi servivo semplicemente dell'acqua, cioè dibattevo con un poco di questa una coltura di *penicillum glaucum* in sporificazione bene avviata. Poi quando le spore si mostravano bagnate, scolavo l'acqua, su un filtro di carta. Le spore che rimanevano sul filtro erano pronte per l'esperimento.

Dall'altra parte ripetevo più volte l'operazione del lavaggio con acqua sulla detta coltura, in modo che le patine perduto il verde comparivano ormai bianche.

I micelii poi, una volta lavati e privati delle pore, come sopra ho detto, li raccoglievo con cura dalla superficie delle cariossidi, e li sperimentavo su cavie.

Certamente guardando al microscopio i detti micelii lasciavano pure scorgere delle spore, ma queste in numero talmente esiguo da non turbare affatto la chiarezza degli esperimenti.

---

(1) Sempre da colture su maiz.

Prospetto degli esperimenti fatti per conoscere se la tossicità nelle patine di Penicillum glaucum *dipenda dalle spore o dai micelii.*

Sostanza d'esperimento	Quantità di sostanza somministrata — gr.	Animale che servì per l'esperimento	Effetti
Micelii ricavati da coltura di 4 giorni.	4	Cavia	Nessun effetto tossico.
Micelii ricavati da cultura di 5 giorni.	6	Id.	Id.
Micelii ricavati da coltura di 15 giorni.	10	Id.	Id.
Spore ricavate da coltura di 4 giorni.	3	Id.	Dopo un'ora circa violenti tremori, che assumono l'intensità di veri spasmi clonici, diffusi a tutto il corpo, specialmente agli arti anteriori; mancanza di equilibrio; andatura paretico-spastica. Incontinenza delle urine, ecc. Durata dei fenomeni circa 20 ore.
Spore ricavate da coltura di 5 giorni.	3	Id.	Id.
Spore ricavate da coltura di 15 giorni.	3	Id.	Id.
Spore ricavate da coltura di un mese.	3	Id.	Id.
Spore ricavate da coltura di 4 mesi.	3	Id.	Id.

Risulta dai riferiti esperimenti che la tossicità scoperta nelle patine di Penicillum glaucum *dipende dalle sue spore, e per nulla affatto dai micelii.*

Verosimilmente quindi una sostanza alimentare invasa dal detto penicillo, senza avervi sporificato, non riuscirà tossica, mentre sarà tossica, per esempio, una sostanza ove il penicillo ebbe agio di sporificare. Così una polenta invasa da giovani vegetazioni di penicillo non riuscirà tossica per veleno penicillare fino a che le vegetazioni non assumono colorito verde indicante spore.

E quello che più importa è la deduzione che bastano tre giorni o poco più perchè il maiz messo in condizioni adatte per lo sviluppo del Penicillum glaucum, *possa diventare tossico.*

3. *Ricerca per conoscere se la tossicità dimostrata nelle spore di « Penicillum glaucum » scompare nei processi di putrefazione.*

Per fare questa indagine procedetti nel modo seguente:

Riempii una grande bacinella di porcellana (da 3 litri circa) con colture pure di *Penicillum glaucum* bene sporificate, su maiz. Noto che queste colture contenevano insieme al maiz, negli strati inferiori, dell'acqua (100 a 200 cmc. per coltura); di modo che nella bacinella vi versai tanto la parte liquida che il maiz con le relative vegetazioni.

Così riempita, anzi ricolma, la bacinella, l'abbandonai scoperta per circa un mese in una camera bene esposta ai calori estivi. Non passarono molti giorni che già la superficie di quel mais si andava rivestendo di una nuova flora di vegetazioni tanto ifomicetiche che schizomicetiche. Non vi mancavano neppure rappresentanti del regno animale, cioè, movendo lo strato superficiale del maiz si riscontrava al disotto un vero brulichio di larve di mosche. In questo mentre un ingrato odore di ammine prevaleva, e ancor meglio assicurava qual sorta di fermentazione era in corso.

A questo punto feci spandere al sole d'estate, per alcune ore, su larghe lastre di vetro quella massa putrida per provocarne una rapida evaporazione. Poi asciutta alquanto, ma non secca, la feci pestare in mortaio tanto da ridurla come pasta grossolana alquanto molle.

In tale stato presentava i seguenti caratteri fisici: odore disgustoso di ammine; colore bruno: reazione alcalina. Al microscopio si vedevano ancora integre le spore penicillari tra la miriade di cocchi e bacilli.

Di questa sostanza mi servii per sperimentare su cavie. I risultati ottenuti si leggono nel seguente prospetto:

Prospetto degli esperimenti fatti per conoscere se la tossicità dimostrata nelle spore di Penicillum glaucum *scompare nel processo di putrefazione.*

Numero d'ord.	SOSTANZA d'esperimento per via gastrica	Quantità in grammi	Animale che servì per l'esperimento — Cavia. Peso gr.	Effetti
1	Culture pure di *Penicillum glaucum* bene sporificate, fatte putrefare.	4	315	Nulla.
2	Id.	7	420	Nulla.
3	Id.	10	400	Dopo due ore, lievi tremori agli arti anteriori.
4	Id.	15	435	Dopo un' ora circa, notevoli tremori che durarono oltre mezza giornata.
5	Id.	20	420	Violenti tremori, veri spasmi clonici su tutto il corpo, specialmente agli arti anteriori. Mancanza di equilibrio. Andatura barcollante, ecc. Gli effetti durano oltre un giorno.

Risulta dai riferiti esperimenti che nel comune processo di putrefazione la tossicità del penicillum glaucum *non vi scompare. Dunque si tratta di un veleno di composizione chimica molto stabile.*

4. *Ricerca per conoscere se la tossicità del « penicillum glaucum » resiste alla ebollizione in acqua di fonte.*

Parto da una quantità di patine di azione ben nota, cioè, che in dose di 2 grammi producevano gravi sintomi in una piccola cavia del peso di gm. 200.

Quindi fo bollire 2 gm. di tali patine in mezzo litro d'acqua, in un matraccio, per oltre due ore, e riduco a secco il resto su bagno maria mediante una capsula di porcellana. Raccolto il residuo secco, lo somministro per via gastrica ad una cavia del peso di 200 gm., e noto gli stessi sintomi improntati alla stessa intensità come se avessi somministrate spore non bollite.

L'esperimento dimostra che il veleno penicillare non è dunque volatile, e neppure si decompone alla temperatura di 100° C.

5. *Ricerca per conoscere se la tossicità del « penicillum glaucum » è in dipendenza della natura del substrato, o se, piuttosto, essa è una proprietà inerente alle dette spore.*

Finora in base agli esperimenti fatti poteva dirsi solo questo, che, cioè, sono tossiche le spore di *penicillum glaucum* raccolte da substrati maidici. Per quanto verosimile l'ipotesi che tale tossicità non sia una proprietà labile dovuta al mezzo colturale o ad altre influenze accidentali, ma piuttosto inerente ai fenomeni vitali dell'ifomiceto che si prepara alla conservazione della specie, tuttavia l'esattezza di simile ipotesi reclama ancora la dimostrazione. Per cui ho fatto alcune indagini allo scopo di chiarire la questione di cui parlo.

Disposi l'esperimento nel modo seguente: preparai colture di *penicillum glaucum* su svariati substrati, poi, da ciascuna coltura raccolte le patine, venni a saggiarne mano mano la tossicità nella guisa stessa che nei precedenti esperimenti.

Nella seguente tabella riunisco le prove fatte e i risultati ottenuti.

Prospetto delle prove fatte per conoscere se la tossicità del Penicillum glaucum *dipende dal substrato, o sia una proprietà esclusiva delle sue spore.*

SUBSTRATO sul quale venne coltivato il *Penicillum glaucum* fino a completa sporificazione	Quantità di patine somministrate — Grammi	Cavie — Peso grammi	Effetti
Brodo di Loffler, reso lievemente acido.	4	390	Tremori violenti. Paresi. Deficienza di equilibrio, andatura paretico–spastica. Incontinenza delle urine.
Gelatina spalmata con uno straterello di soluzione acida.	3	260	Id.
Agar-agar al brodo di Löffler alcalino	3	300	Id.
Salda di farina di frumento. . . .	4	415	Id.
Polpa di frutta (mele, pere) . . .	4	230	Id.
Conserva di pomodoro	4	270	Id.
Cuoiami (ritagli)	2	180	Id.
Trucioli di legno bagnati con acqua	1.70	150	Id.
Sugheri ridotti a piccole sfere, inumiditi.	2	210	Id.
Fette di formaggio molle.	3	370	Id.
Mortadelle (superficie esterna). . .	4	365	Id.
Latte allungato con $^{2}/_{3}$ di acqua di fonte.	3	290	Id.

Risulta da questi esperimenti che la proprietà tossica del Penicillum glaucum *è inerente alle spore, ed è indipendente dalla natura del substrato.*

CAPITOLO VI.

Saggio del potere tossico del Penicillum glaucum su me stesso.

Condotti a questo punto gli esperimenti, fui preso dal desiderio di conoscere in qualche modo l'importanza che il penicillo tossico poteva avere nell'eziologia della pellagra. Ma a qual prova ricorrere che offrisse solide garanzie per un criterio esatto? Alla prova sui comuni animali da esperimento? Ma quando mai i bruti presero la pellagra? È lecito supporre che, sperimentalmente, in essi tutto al più potremmo sperare la dimostrazione di una sola parte della fenomenologia della pellagra, cioè, i disturbi motorii e quelli gastroenterici; sì e no quelli della pelle, perchè la pelle dei bruti differisce parecchio dalla nostra, sia per conformazione anatomica sia per funzione fisiologica; impossibile poi provocare in essi delle follie pellagrose, essendo noto che sono deficienti di quella parte nobile di centri cerebrali che nell'uomo costituiscono la psiche (1).

Riflettendo al Lombroso che pure si fece fare una iniezione ipodermica di spore penicillari, al Gosio che ebbe somigliante abnegazione, io decisi parimenti di sperimentare su me stesso. Persuaso che questo era uno dei migliori modi per arrecare un poco di luce in tale questione, allestii dapprima molte colture pure del penicillo tossico, preparai anche buona quantità di spore e patine che misi in riserva allo stato secco, poi subito all'esperimento. Il programma fu di eseguire tutte le prove per la sola via gastrica, cominciare con l'ingestione quotidiana di piccole dosi di patine penicillari, aumentare la dose man mano ogni giorno fino ad un massimo e

---

(1) Tuttavia tenterò anche avvelenamenti cronici sugli animali, prendendo nota dei fenomeni clinici e dei reperti anatomo-patologici. Non solo, ma ricorrerò anche ad altre vie più o meno indirette, come per esempio:

α) Studio per conoscere le vie di eliminazione del veleno penicillare sugli animali, comparato ad analoga ricerca sui pellagrosi per sapere se nei comuni emuntori compaiono veleni di comune origine penicillare.

β) Esperimenti per conoscere se il sangue di pellagrosi guariti ha proprietà antitossiche contro il veleno penicillare ciò che ho già incominciato a fare (v. in fine).

γ) Estrazione e determinazione della quantità di veleno penicillare che suole ricavarsi dal maiz guasto prelevato presso famiglie bersagliate dalla pellagra.

δ) Rapporto esistente fra la diffusione del penicillo tossico e i focolai di pellagra.

La relazione delle suddette ricerche non figura nella presente memoria. Fra quelle cennate, qui riferirò qualche cosa solo intorno ai primi tentativi di intossicazione lenta su animali.

persistere fino a tanto che non sarei stato rimosso dal sopraggiungere di troppo gravi sintomi. Con questo metodo avevo di mira di conoscere gli effetti risultanti da una data serie di avvelenamenti acuti. Certo sarebbe stato molto più fruttuoso lo sperimentare per lungo tempo e con dosi refratte allo scopo di venire ad una vera intossicazione cronica, ma non potei prescegliere tale via che mi avrebbe, per troppo lungo tempo, costretto a rimanere inoperoso.

Noto che al momento di mettermi alla prova la mia costituzione presentasi robusta, le masse muscolari bene sviluppate, il pannicolo adiposo poco abbondante, il colorito della cute normale, le mucose rosee. Peso del corpo circa kg. 70. Il sistema nervoso non offre anormalità apprezzabili. Regolari le funzioni psichiche, i riflessi, le varie sensibilità, i sensi specifici, idem le funzioni gastro-enteriche, uropoietiche, ecc.

Le ingestioni sono fatte sempre a digiuno fra le 7 e le 9 del mattino, mai divise in più volte durante la giornata.

Le patine o le spore di cui facevo uso erano umide, e, anche quando adoperavo quelle secche, le rammollivo prima in una conveniente quantità di acqua, per cui nel resoconto indico sempre la quantità corrispondente al loro stato umido. Per facilitare l'ingestione mi servivo poi, secondo i casi, ora di ostie, ora di capsule di gelatina, ora ingerivo la sostanza d'esperimento addirittura in forma di massa pillolare. Dal 1° giorno al 14° l'ingestione è stata giornaliera; dal 14° al 19° l'ho fatta ogni 3-4 giorni.

Devo pure far notare che le efflorescenze di cui mi servivo erano bensì ricche di spore, ma non erano esenti da residui di terreno colturale, destrina, ecc.

Dapprima, come saggio, provai l'ingestione di 2 gr. di spore ben lavate e accuratamente depurate da micelii, destrina, glucosio e da altri elementi appartenenti al terreno colturale. Ne risentii, dopo un paio d'ore, sintomi acuti, violenti: vomito, salivazione, sbalordimento, vertigine, confusione delle idee, tremori, paresi, impossibilità di stare in piedi a motivo dell'eccessiva debolezza e del senso di vertigine. Questi fenomeni mano mano si dileguarono entro 6-7 ore.

Non potei proseguire gli esperimenti con siffatto materiale perchè ne avevo poco a disposizione; proseguii invece con patine penicillari di cui avevo abbondante riserva. Queste, come già dissi, erano bensì ricche di spore, ma abbondavano nel tempo stesso di molta zavorra come micelii, amido, destrina, glucosio, acqua.

Le ingestioni di tale materiale, fintanto che le dosi oscillarono fra 2 e 7 gr., produssero: aumento della salivazione, sapore sgradevole nella cavità orale, malessere insolito.

Elevando giornalmente la dose fino ai 15-16 gr., i suddetti sintomi si

vennero aggiungendo i seguenti: senso di bruciore allo stomaco e senso di costrizione in gola; peso al capo specialmente sulla regione frontale: debolezza alle gambe.

Tali disturbi solevano comparire dopo un paio d'ore dall'ingestione e dileguarsi con rimarchevole lentezza.

Le dosi di 20 gr. poi davano sintomi di vera intossicazione acuta, paragonabile per intensità a quelli già notati in seguito all'ingestione di 2 gr. di spore depurate. Insorgeva, cioè, vomito dopo un'ora all'incirca dalla ingestione; riacutizzazione dello sbalordimento; confusione indeterminata; vertigine; senso di impoverimento di tutta la vita psichica; peso allo stomaco; crescente debolezza agli arti inferiori, che nei periodi acuti contribuiva a rendere barcollante la deambulazione; aumento della sensibilità cutanea; sonno interrotto da molesto calore per la pelle; bisogno frequente di urinare che cessava col dileguarsi dei fenomeni acuti, leggieri tremori più manifesti sugli arti superiori, associati ad un lieve grado di atassia: percettibile torpore intellettuale.

Le dosi ancora più elevate, fino a 40 gr., hanno dato costantemente il vomito poco dopo l'ingestione, nonchè tutti gli altri sintomi surriferiti, ma più intensi. In questi stadi acuti era difficile la stazione eretta; anzi il tremore e la vertigine si accentuavano colle alte dosi al punto che, anche sdraiato, ero spinto ad afferrarmi a tutto ciò che mi capitava di resistente sotto mano. In momenti sì gravi nessun dolore, ma terrore proveniente dalla sensazione di cadere.

La luce acutizzava i sintomi. Poco appresso al dileguarsi dei riferiti fenomeni la deambulazione aveva carattere paretico-spastico.

Eravi pure evidente mancanza di equilibrio e depressione dell'attività motoria, specialmente agli arti inferiori. La temperatura oscillava sempre entro limiti fisiologici. È notevole che dopo ciascun periodo acuto subentrava un periodo di reazione, un vero torpore fisico e psichico.

Intanto veniva gradatamente in campo un'ostinata intolleranza verso le patine penicillari, per modo che anche le dosi minime di qualche grammo di dette patine (4-5 gr.) suscitavano effetti insopportabili.

Nel tempo stesso parecchi sintomi accennavano a farsi stazionari, ed ecco i principali che notai: grande svogliatezza; stitichezza; rossore anormale e screpolature sulle labbra aride; tremore della lingua e colorito rosso-intenso, superficie umida, lucida; sbalordimento associato a momenti di vertigine; debolezza agli arti inferiori; facile eccitabilità psichica; senso di ardore per la pelle; manifesto accenno a cute anserina sulle braccia ed avambraccia associato ad anemia; tremore leggiero alle mani con lieve grado di atassia; sensibile disturbo nella deambulazione, cioè, chiari indizi di andatura paretico-spastica; inappetenza; riflessi in generale vivaci, specialmente i rotulei; peso specifico delle urine dapprima normale, poi alquanto basso; iperemia congiuntivale in ambedue gli occhi; costituzione fisica in progressivo deperimento; cessata la stitichezza compare la diarea; pronunciato rossore sugli zigomi e sul naso formante contrasto col pallore del resto del corpo.

A questo punto, cioè dopo 19 prove, troncai gli esperimenti.

I riferiti disturbi si attenuarono ben presto, ma non scomparvero che lentamente in seguito.

È certamente notevole la sensibilità dell'uomo verso il veleno penicillare.

Intanto, sulle riferite dosi bisogna riflettere che esse in gran parte si riferiscono ad intossicazioni intense, acute, e che, inoltre, quelle alte venivano sempre reiette una o due ore dopo l'ingestione. Date tali circostanze mi è difficile valutare con precisione la quantità vera di patine penicillari che volta per volta fu trattenuta. Calcolando all'ingrosso questa quantità, si direbbe che solo una piccola parte della dose presa era quella che perveniva a spiegare gli effetti tossici, e si verrebbe alla supposizione di poter ottenere con dosi assai minori effetti identici a quelli riferiti.

Questa funzione auto-regolatrice, mediante la quale lo stomaco si liberava dell'eccesso della sostanza ostile ha reso tollerabili le forti dosi che altrimenti sarebbero state ben pericolose. L'esperimento fatto con dosi crescenti mi appare ridotto dalla detta funzione quasi come un esperimento fatto con dosi medie non crescenti.

Risulta che le dosi occorse per ottenere intossicazioni acute penicillari sono:

1. Per un' intossicazione acuta lieve, ben percettibile, gr. 7 di patine penicillari, cioè gr. 1 per 10 kg. di peso corporeo.

2. Per una intossicazione acuta grave, gr. 20, cioè circa 4 gr. per 10 kg. di peso corporeo.

È pur notevole che mentre in principio degli esperimenti la dose di 7 gr. dava effetti acuti lievi, alla fine dei detti esperimenti mostravasi intollerabile, senza la risorsa del vomito, perfino quella di 5 gr.

Ora quale sarà la dose necessaria, quotidiana, capace di produrre nell'uomo un'intossicazione cronica? Qui siamo all'oscuro, ma da esperimenti che sto facendo sui cani pare che anche quelle piccole dosi che in principio riescono incapaci a produrre sintomi tossici ben percettibili, cominciano dopo vari giorni a portare effetto ben manifesto. Tremore, dimagrimento eccessivo, paresi, lieve stato spastico dei ventri muscolari in specie sugli arti posteriori, in fine diarrea, andatura paretico-spastica, morte.

Se vi ha analogia anche nell'uomo basteranno piccole dosi giornaliere per provocare fenomeni di intossicazione cronica.

Quello che poi desta il maggior interesse nell'avvelenamento penicillare è la qualità dei sintomi.

Si tratta di una fenomenologia (1), la quale merita tutta l'attenzione dell'igienista come del fisiologo e del clinico.

---

(1) Sento il dovere di dichiarare che, date le condizioni di tempo e di luogo in cui ho sperimentato, non ho potuto fare certamente un'esposizione scientifica e completa della fenomenologia di cui sono stato paziente, però ho

CAPITOLO VII.

Primi tentativi di avvelenamento lento sugli animali.

Ho in corso alcuni tentativi per produrre intossicazioni croniche sulla cavia, sul coniglio, sul gatto e sul cane, sia per via sottocutanea sia gastrica. Gli esperimenti che fin qui ho potuto eseguire non permettono pel momento di formulare alcuna conclusione; però credo utile riferire intorno a due cani i quali sono morti, il 1° dopo 13 giorni, e il 2° dopo 26 giorni di trattamento (via gastrica) con spore penicillari tossiche. Era mio desiderio che questi due cani non morissero così presto, ma confèsso che non ho saputo regolare la dose, per cui essi si sono aggravati precocemente e periti. Ora però ne ho altri in esperimento, e spero mantenerli ammalati per lungo tempo, così avrò agio di prendere nota di tutti i fenomeni morbosi finchè vivono, e inoltre preparare con siffatto avvelenamento lento preziosi reperti anatomo-patologici.

Qui colgo l'occasione di dichiarare che per quanto concerne le necroscopie e gli esami anatomo-patologici degli animali che avveleno col penicillo tossico, ho fatto appello alla squisita cortesia del dott. A. Dionisi libero docente e aiuto alla cattedra di anatomia patologica nell'Università di Roma; di modo che, grazie alla sua gentile cooperazione, i referti che riguardano le note cadaveriche e le alterazioni istologiche saranno da me riferiti quali mi vengono da lui comunicati.

---

esposto con rigorosa fedeltà tutto quello che mi fu possibile rilevare coi miei sensi, coadiuvato nel prendere nota dei sintomi obbiettivi da una cara e intelligente persona. È così che certi sintomi riferentisi a tristi periodi acuti, non li ho neppure segnati, perchè non garentiti a sufficienza dal controllo dei miei sensi.

Esperimento 1°. — *Avvelenamento lento con patine penicillari tossiche (via gastrica)* (1). — Cane, peso gr. 4400.

DATA	Peso in grammi	Quantità di spore somministrate — gr.	Note sul corso dell'intossicazione
15 gennaio 1902 . .	4400	2 ½	Durante il corso dell'intossicazione il cane ha mostrato tendenza, parecchie volte, a vomitare le patine che gli facevo forzatamente ingerire. Due volte ho ritrovato per terra queste pillole vomitate, altre volte l'ho sorpreso mentre aveva conati di vomito. Dopo le prime 4 somministrazioni il cane non aveva presentato disturbi acuti apprezzabili, eccetto la diminuzione di peso. Ma il giorno 23 (9ª giornata) mostrava già notevole abbattimento, coda tra le gambe, andatura sensibilmente paretica. non era più vispo. Il giorno 28 (14ª giornata) lo trovo affetto da diarrea; l'andatura paretica mostra un sensibile carattere anche spastico sugli arti posteriori, e questo fenomeno è meglio visibile poco dopo la somministrazione della solita dose di spore. Nei giorni seguenti persiste la diarrea fetida e l'andatura paretica alquanto spastica. Dimagrisce sempre più, tuttavia mangia, fino al penultimo giorno di vita, con buon appetito, carne, trippa, pane. Se ne sta nel giaciglio e pare affetto da paura. La paresi si accentua, in fine non si regge più in piedi. Giace paralizzato negli arti; respiro calmo e battiti cardiaci ritmici, non molto frequenti. Muore il 2 febbraio senza aver presentato convulsioni, ma solo vaghi spasmi fibrillari.
16 » . .	..	..	
17 » . .	4350	2 ½	
18 » . .	..	..	
19 » . .	4280	2 ½	
20 » . .	..	..	
21 » . .	4050	2 ½	
22 » . .	..	..	
23 » . .	3900	2 ½	
24 » . .	..	..	
25 » . .	3700	2 ½	
26 » . .	..	..	
27 » . .	3400	2 ½	
28 » . .	..	..	
29 » . .	3270	2 ½	
30 » . .	..	..	
31 » . .	3090	2 ½	
1 febbraio 1902 . .	..	..	
2 » . .	2850	2 ½	

Riassumendo: I fenomeni più importanti mi sono parsi i seguenti: Il forte dimagrimento, la diarrea, la paresi e l'andatura paretica alquanto spastica.

Necroscopia (Dionisi). — *Stomaco*: In corrispondenza dell'orificio pilorico dello stomaco e precisamente pel tratto di circa 3 cm.

(1) Queste patine non sono molto ricche di spore; derivano però, come al solito, da colture pure.

dall'anello pilorico in su si nota un'iperemia intensissima dello stomaco la quale si continua tanto sulle pliche della mucosa che negli spazi interposti a questa.

Rene: Al taglio i glomeruli sono poco visibili, in qualche tratto appaiono come punti chiari. I tubuli retti della sostanza corticale sono molto distinti, di un colorito grigio-roseo che spiccano sul fondo roseo vinoso della sostanza corticale del rene.

Polmoni: Tanto sul polmone destro che sul polmone sinistro in corrispondenza del margine interno anteriore del lobo superiore e del lobo inferiore del polmone destro, si nota un aspetto variegato che è dato dalla presenza di puntini grigiastri sul fondo rosso-scuro che si osserva a chiazze sulla superficie del polmone. Nel polmone destro, nel lobo superiore e medio notiamo anche un aspetto variegato dato da parti chiare e parti scure che si alternano senz'ordine per estensioni varie. Le parti chiare corrispondono al parenchima polmonare normale, rivestito da pleura normale, le parti scure che appaiono aumentate di consistenza, a focolai d' ipostasi polmonare. Il lobo inferiore del polmone destro è anch'esso aumentato di volume e di consistenza, anch'esso di colorito rosso-scuro. Al taglio si osserva la superficie liscia, e alla pressione, fuoriesce da questa un liquido aerato torbido. Al taglio del lobo medio si osservano anche delle emorragie nel parenchima polmonare. Lo stesso aspetto ci offrono anche il lobo superiore e inferiore del polmone sinistro (ipostasi ed edema polmonare).

Intestino: Sul grosso intestino si notano delle zone iperemiche, così pure nell'appendice vermicolare. Le placche del Peyer non sono tumefatte.

Esame istologico del midollo, cervello, rene, ecc.: Nessuna alterazione evidente. Occorrono ulteriori ricerche su animali avvelenati cronicamente.

ESPERIMENTO 2°. — *Avvelenamento lento con patine penicillari tossiche* (1) (*via gastrica*). — Cane, peso gr. 5150.

DATA	Peso in grammi	Quantità di patine somministrate per via gastrica — Grammi	Note sul corso dell'intossicazione
15 gennaio 1902 . .	5150	2 ½	Non compaiono sintomi acuti.
16 » . .	..	..	
17 » . .	4950	2 ½	Idem.
18 » . .	..	..	
19 » . .	4740	2 ½	Il cane non pare di buon umore; se ne sta solitario.
20 » . .	..	..	
21 » . .	4500	2 ½	Mostra sensibile diminuzione dell'appetito.
22 » . .	..	..	
23 » . .	4330	2 ½	Non è più vispo; è notevolmente dimagrito; coda dimessa fra le gambe; andatura alquanto incerta.
24 » . .	..	..	
25 » . .	4100	2 ½	Circa 3 ore dopo la solita somministrazione lo trovo giacente al suolo preso da spasmi clonici. Dopo alcune ore si regge in piedi, e lascia scorgere un lieve tremore.
26 » . .	..	..	
27 » . .	3970	..	Pare migliorato, non trema; andatura quasi normale, mostrasi però alquanto abbattuto.

(1) Queste patine sono identiche a quelle adoperate nel precedente esperimento.

DATA	Peso in grammi	Quantità di patine somministrate per via gastrica — Grammi	Note sul corso dell'intossicazione
28 gennaio 1902 . .	..	..	
29 » . .	3880	2 ½	Pare migliorato, non trema; andatura quasi normale, mostrasi però alquanta abbattuto.
30 » . .	..	..	
31 » . .	3800	..	Idem.
1 febbraio 1902 . .	..	..	
2 » . .	3720	2 ½	L'andatura è divenuta alquanto impacciata e paretica. Ha diarrea. Mostra un leggiero tremore sugli arti anteriori e sul collo.
3 » . .	..	..	
4 » . .	3640	2 ½	Idem.
5 » . .	..	..	
6 » . .	3610	2 ½	Vi ha in più che l'andatura è divenuta anche alquanto spastica sugli arti posteriori. Appetito discreto. Diarrea fetida persistente.
7 » . .	..	..	
8 » . .	3500	..	Idem.
9 » . .	..	..	
10 » . .	3450	..	Non si regge più sulle gambe; sollevato, dà alcuni passi che rivelano in modo chiaro la paresi degli arti e lo stato spastico dei ventri muscolari, per cui barcollante ricade al suolo. Intanto si accentua la paresi e muore senza convulsioni.

Necroscopia (Dionisi). — Broncopolmonite. Leggera iperemia del tenue.

Sulle cavie e sui conigli finora non potei riuscire a produrre un avvelenamento lento. Però dalle poche prove ricevo l'impressione che è difficile regolare la dose in questi animali; sarà questione di pazienza, ma fin qui non vi sono riuscito, poichè mi è risultato che le dosi capaci di dare forme di intossicazione acuta, ripetute per alcuni giorni, hanno sempre ucciso gli animali, mentre le piccole dosi incapaci di produrre segni apprezzabili di intossicazione acuta, sono state ben sopportate dalle cavie e dai conigli (noto però che ho sperimentato soltanto per poche settimane).

Invece sul cane, l'animale da esperimento che più si accosta all'uomo per sensibilità verso il veleno penicillare, sembra che sia più facile ottenere una forma lenta di intossicazione. Questo lo dico non perchè io vi sia già riuscito, ma perchè dagli esperimenti in corso mi pare che vi si possa riuscire. Certo poi è che con le dosi di penicillo tossico somministrate giornalmente ai cani in quantità tali da produrre appena qualche lieve fenomeno di intossicazione acuta, il loro organismo comincia rapidamente a deperire. E quelle dosi che dapprima davano sintomi lievissimi, producono in seguito effetti generali assai spiccati, non solo, ma al deperimento organico si associa il fatto che i fenomeni acuti che da principio si mostravano appena percettibili e passeggieri, poi si fanno quasi stazionarii, e frattanto i cani divenuti macilenti, diarroici, paurosi, tremanti, paretici, barcollanti sugli arti posteriori, si preparano a morire.

Per adesso non potrei dire di più sul riguardo della intossicazione lenta: tornerò presto sull'argomento.

CAPITOLO VIII.

Estrazione della sostanza tossica dalle spore del Penicillo.

Una volta conosciuto che le spore di una varietà di penicillo verde contengono veleno ad azione ben caratteristica, e che un reattivo fisiologico ne sono i comuni animali da esperimento citati, la estrazione di tal veleno non presentava grandi difficoltà; molto più che la mia aspirazione in questo primo momento non era di ottenere una sostanza ad un grado di purezza da soddisfare le esigenze del chimico.

Per adesso qui indico di volo soltanto qualcuno dei metodi che

ho adoperato per avere non già la sostanza tossica pura, ma un estratto contenente la sostanza attiva:

1° Ad una certa quantità di spore aggiungo il doppio volume di alcool, tratto per una mezz'ora a bagno maria in apparecchi a ricadere, filtro, il filtrato lo evaporo a secco, riprendo il residuo con etere, decanto, agito l'etere ripetutamente con soluzione di carbonato sodico, decanto ed evaporando l'etere ho nel residuo la sostanza attiva.

2° Tratto le spore con etere di petrolio, filtro, dibatto il filtrato con alcool etilico il quale toglie la sostanza tossica all'etere di petrolio, decanto e ottengo la sostanza attiva mediante evaporazione dell'alcool. La libero dagli acidi grassi, mediante trattamento con etere e con soluzione di carbonato sodico.

Il residuo è una sostanza molle, amorfa, giallo-paglierina tendente al giallo-arancio, dotata di un odore sui generis, non spiacevole; non è amara, ha sapore aromatico. È insolubile nell'acqua, solubile nel cloroformio, nell'alcool, nell'etere etilico, nell'etere di petrolio, nell'olio di vaselina, ecc. Ma di ciò ora basta, perchè uno studio per quanto concerne la funzione e le principali proprietà chimiche di questa sostanza, intendo pubblicarlo a parte.

Effetti fisiotossici della sostanza attiva estratta dalle spore.

Essa riproduce gli stessi effetti tossici delle spore da cui deriva (V. Cap. IV) sia somministrata per via gastrica (1) sia sottocute, differisce solo per intensità d'azione. Ecco la dose approssimativa che occorre per ottenere fenomeni acuti intensi; fenomeni che in generale sogliono comparire dopo un paio d'ore, o poco meno, e durare molte ore.

---

(1) È da notare che nei gatti e nei cani, a motivo della risorsa del vomito, la via gastrica non è da preferirsi; ma quando si vuole preferire, è bene sorvegliare e tener conto del veleno reietto col vomito o con la salivazione.

ESPERIMENTI su	Via gastrica — Veleno somministrato nella proporzione di gr. 0 0015 pei seguenti pesi di animale	Via ipodermica — Veleno (1) dato nella proporzione di gr. 0.0015 pei seguenti pesi di animali
Cavia	per ogni 250- 300 gr.	per ogni 250- 300 gr.
Coniglio	» 450- 500 »	» 450- 500 »
Gatto	» 450- 500 »	» 450- 500 »
Cane	» 1000-1500 »	» 1000-1500 »

(1) In tal caso adopero come solvente del veleno l'olio di vaselina. — Sotto cute per solito si assorbe senza dar luogo a notevole reazione locale; tutto al più ho visto comparire qualche rara volta un leggiero ispessimento, mai ascessi, anche quando ho eseguito l'iniezione senza alcuna cura per l'asepsi. Mi preme far notare che la detta sostanza tossica in forma di soluzione oleosa agisce con uguale attività se somministrata per via gastrica a cani o gatti; invece essa riesce di difficile assorbimento per via gastrica nelle cavie. Per cui quando si vuole sperimentare su queste per la via dello stomaco, è bene adoperare il veleno penicillare o indisciolto, o sciolto in altro solvente più adatto.

CAPITOLO IX.

Sintesi sulla fenomenologia dell'intossicazione penicillare e conclusioni generali.

A) Sintesi.

Dai miei esperimenti risulta che nell'avvelenamento provocato con l'ingestione di spore della varietà tossica di *Penicillum glaucum* o con la sostanza tossica estratta dal detto penicillo, sia che si somministri per via gastrica sia per via epidermica, i sintomi obbiettivi più importanti e frequenti sono quelli che si manifestano a carico del sistema nervoso, in ispecie i disturbi della motilità, cioè un insieme di manifestazioni paretiche e spastiche: tremore che talora va fino ai più violenti spasmi clonici, lieve grado di atassia agli arti superiori, esagerazione dei riflessi e del tono muscolare, insomma un complesso di fenomeni spinali che fanno pensare senz'altro ad alterazioni nei fasci piramidali crociati e nella sostanza grigia del midollo.

Oltre questa serie di fenomeni, nell'avvelenamento penicillare, se ne notano altri pur ragguardevoli e costanti, come la salivazione aumentata, il bisogno frequente di emettere urina fino all'incontinenza, la diarrea preceduta da un notevole periodo di stitichezza, l'inappetenza, l'arrossamento anormale sugli zigomi, labbra e lingua, le vertigini, il peso specifico delle urine alquanto inferiore al fisiologico, ecc.

Risulta pure che questo *Penicillum glaucum* suscita una ricca varietà di fenomeni subbiettivi i quali nell'insieme hanno molto interesse. Fra di essi sono imponenti quelli a carico del capo, cioè il senso di peso. lo sbalordimento, la cefalea, il senso di vertigine, segue il senso di debolezza diffusa a tutto il corpo, specialmente agli arti inferiori; inoltre il senso di calore e prurito sulla pelle che turba la tranquillità del sonno, il peso e bruciore allo stomaco, l'inappetenza, il malessere generale e la facile eccitabilità psichica.

Non vi ha dubbio che esiste notevole somiglianza fra i sintomi provocati da questo veleno penicillare e i principali sintomi che caratterizzano la pellagra; e tale somiglianza è tanto più degna di essere presa in considerazione quando riflettiamo che è per lo appunto il *Penicillum glaucum*, la più comune muffa del maiz guasto, che dal Balardini, al Lombroso, al De Giaxa, al Gosio, al Ferrati, al Bonservizi (1), insomma dalla maggior parte dei pellagrologi è stato tenuto costantemente in sospetto quale agente pellagrogeno (2).

B) Conclusioni generali.

1° Tanto nel maiz naturalmente avariato proveniente da località infeste da pellagra, quanto in quello fatto muffire in laboratorio i risultati delle analisi batteriologiche non presentano fra loro notevoli differenze. I microrganismi che vi si rinvengono in prevalenza sono i penicilli e in specie i penicilli verdi, seguono gli asperigilli, le bothrytis, i blastomiceti e saccaromiceti, i mucor, gli schizomiceti.

2° Nei substrati maidici muffiti (ma non putrefatti) privati delle patine o efflorescenze ifomicetiche, non ho rinvenute sostanze tossiche di natura basica, nè glucosidica; e quando dall'esperimento fisiotossico preliminare ho avuto indizi di veleni ad azione generale, ho constatato che trattavasi di tracce di alcool e combinazioni eteree con acidi organici.

(1) Inchiesta sulla Pellagra in provincia di Mantova, 1899.

(2) Non posso fare a meno di notare come la scoperta di un penicillo tossico che suole rinvenirsi nel maiz guasto - dopo quanto già è noto della *Claviceps purpurea* nella segala - apre una nuova via allo studio su di un campo, dirò così, quasi vergine, su microrganismi superiori, aventi bensì poca tendenza ad attaccare direttamente il nostro corpo, ma che però possono riuscire funesti, mediante veleni che essi producono, e che noi inconscientemente introduciamo nella nostra economia.

3° Che *i substrati colturali maidici*, sia liquidi, sia solidi, ove ho fatto vegetare in culture pure i comuni ifomiceti invasori del maiz si sono mostrati, dopo privati delle patine, sempre privi di tossicità su cavie e conigli ad onta delle alte dosi somministrate ad essi per tre giorni di seguito, quindi queste muffe, come sono state da me coltivate, non producono veleni fissi, solubili nell'acqua o diffusibili ai mezzi culturali.

4° Che *le vegetazioni o patine degli ifomiceti* che ho presi in esame, si sono mostrate tutte, al pari dei rispettivi substrati, prive di tossicità; ma che fra queste fanno eccezione le patine di una varietà di *Penicillum glaucum* isolata da maiz guasto proveniente dalla provincia di Mantova.

5° Che questa varietà di *Penicillum glaucum* contiene una sostanza tossica molto attiva, la quale ordinariamente non passa nei terreni colturali, ma rimane in seno agli elementi che costituiscono la vegetazione ifomicetica.

6° Che la tossicità non suole comparire nelle patine del detto penicillo prima del 3° giorno di coltura, cioè non compare prima dell'inizio della sporificazione; che dal 3° giorno fin verso il 5° la tossicità è in aumento raggiungendo un massimo verso il 15°, e rimanendo quasi invariabile in seguito.

7° Che la tossicità scoperta nelle patine del detto penicillo, dipende dalle sue spore e per nulla affatto dai micelii, come pure è del tutto indipendente dalla natura del substrato.

8° Che la tossicità suddetta non scompare nel comune processo di putrefazione; che resiste benissimo all'ebollizione di parecchie ore in acqua, a 100° C.

9° Che queste spore tossiche, siano vive, siano morte, somministrate per via gastrica ai comuni animali da esperimento, producono fenomeni locali e generali, degni di studio.

10° Che i varii animali da esperimento offrono una sensibilità differente verso le dette spore; cioè questa sensibilità mentre è minima o nulla nel pollo, è ben manifesta nella cavia, un poco più nel coniglio, ancora meglio nel gatto, sensibilissimo è il cane, l'uomo poi è il più sensibile di tutti: insomma pare che questa sensibilità spicchi tanto più quanto più si esperimenta in individui elevati sulla scala zoologica.

11° Che nei cani è possibile ottenere delle intossicazioni lente somministrando ad essi per via gastrica piccole dosi giornaliere di spore, e che fra i fenomeni che si ottengono spiccano i seguenti: il rapido dimagrimento, la paresi, i tremori, l'esagerazione ge-

nerale dei riflessi, la diarrea ostinata, l'andatura paretico-spastica, ecc.

12° Che è facile estrarre la sostanza tossica dalle spore mediante adatti solventi i quali in genere sono quelli dei grassi.

13° Che questa sostanza tossica estratta, riproduce completamente gli stessi effetti delle spore dalle quali deriva, sia somministrata per via gastrica, sia per via ipodermica.

14° *Che molto probabilmente questo veleno penicillare è l'agente pellagrogeno fin qui sfuggito a tutte le indagini; ma dei rapporti intimi tra di esso e la sintomatologia della pellagra dirò in una prossima memoria, alla quale riserbo la enunciazione di un giudizio definitivo.*

Saggio del potere antitossico del siero di pellagrosi guariti rispetto al veleno penicillare.

Mentre il lavoro era già impaginato, grazie alla squisita cortesia del. prof. Devoto e del dott. M. Ascoli, ho potuto avere un poco di siero di una pellagrosa guarita di fresco; di questo siero ho tentato di saggiare il potere antitossico rispetto al veleno penicillare.

La poca quantità di materiale, pel momento, non mi ha permesso di fare che una sola prova secondo l'idea sopra espressa, e senza dubbio l'avrei passata sotto silenzio se il risultato ottenuto non fosse stato oltremodo interessante.

Ad una cavia del peso di gr. 360 iniettai sotto cute 8 cmc. di siero di pellagrosa guarita. Scorse 14 ore iniettai sotto cute a questa stessa cavia 1 cmc. di una soluzione di veleno penicillare in olio di vaselina all'1 1/2 per mille, la quale dose è appunto quella richiesta per produrre intensi tremori e altri disturbi motorii della durata di circa 20 ore su cavie di 360 gr. Come controllo, ad un'altra cavia di eguale grossezza (gr. 360) iniettai sotto cute un'eguale dose della suddetta soluzione di veleno penicillare. Orbene *la cavia iniettata preventivamente col siero pellagroso non ha mostrato il benchè minimo fenomeno tossico, nè in quel giorno, nè il giorno seguente; mentre la cavia di controllo, iniettata semplicemente col veleno penicillare, dopo un'ora era già in preda ai caratteristici e violenti tremori che hanno durato intensi per tutto il giorno, e perfino la mattina seguente lasciava scorgere traccie di disturbi motorii.*

Dinanzi a sì bel risultato sorgeva il sospetto che la neutralizzazione del veleno penicillare ora rilevata non dipendesse da specifi-

cità del siero pellagroso, sibbene da una proprietà generale del siero normale di sangue umano; perciò ho fatto la seguente prova:

Ad una cavia del peso di gr. 235 iniettai sotto cute 20 cmc. di siero di sangue di uomo sano. Scorse 14 ore iniettai sotto cute a questa stessa cavia cmc. 0,7 della suddetta soluzione di veleno penicillare. Nel tempo stesso come controllo, ad un'altra cavia dell'egual peso (di gr. 235) iniettai sotto cute un'egual dose della suddetta soluzione di veleno (cmc. 0,7). Orbene, *tanto la cavia inoculata preventivamente col siero normale e poi col veleno, quanto quella di controllo inoculata col solo veleno, hanno manifestato sintomi tossici di pari intensità e pari durata.*

Avendo ripetuto questo esperimento sul coniglio, ebbi risultato identico.

Dunque la completa assenza dei fenomeni tossici nella cavia che fu inoculata preventivamente col siero pellagroso e poi col veleno penicillare, farebbe pensare che non si tratta di effetto dovuto ad una proprietà generale del siero di sangue umano, ma di un vero potere antitossico specifico del siero di pellagroso guarito verso il veleno penicillare.

Ulteriori ricerche vedremo se confermeranno questi risultati.

***

Adempio il dovere di porgere vivi ringraziamenti e attestare la mia riconoscenza a S. E. Guido Baccelli, Ministro di agricoltura, industria e commercio, poichè mi concesse un sussidio di lire trecento pel proseguimento delle ricerche sull'eziologia della Pellagra.

ISTITUTO D'IGIENE DELL' UNIVERSITÀ DI ROMA

Alcuni casi di dissenteria epidemica nel Comune di Vitorchiano curati col siero antidissenterico

per i dottori **CORSERI** e **VALENTI**.

Durante la scorsa estate nel Comune di Vitorchiano (provincia di Roma) e nella limitrofa campagna si manifestò un'epidemia così grave di dissenteria, come da parecchio tempo non si era verificata, sia perchè nella maggior parte dei casi la malattia fu molto ostinata, sia perchè dopo la convalescenza residuarono delle sofferenze che tardarono molto a guarire, sia perchè parecchi furono i casi di morte che si ebbero a deplorare durante l'epidemia.

A differenza degli altri anni, gli attaccati dal morbo erano tanto gli adulti che i bambini, e i sintomi e gli esiti furono indifferentemente gravi e funesti sì per gli uni che per gli altri.

I fenomeni dissenterici in alcuni si presentarono dopo indisposizioni intestinali datanti da qualche giorno, con accentuazione graduata di tutti quei sintomi di cui o poco o nessun conto avevano fatto gl'infermi stessi, in altri invece l'attacco fu improvviso violento e i fenomeni gravi si succedettero rapidamente riducendo gl'infermi ad un progressivo esaurimento di forze ed in alcuni casi anche a morte.

Il numero degl'infermi colpiti raggiunse i 50 fra adulti e bambini, e 39 ne furon curati con i comuni mezzi terapeutici che ricordiamo brevemente:

Cura dietetica rigorosa, miglioramento il più possibile delle condizioni igieniche, disinfezione accurata dell'ano e dei genitali dopo ogni deiezione, calomelano, purganti oleosi, radice di ipecacuana, e infusi oppiacei, iniezioni di morfina, astringenti ed anti-

settici intestinali, supposte anali, clisteri laudanizzati e di gelatina, bagni caldi, vesciche di giaccio, lavande intestinali.

Questo il metodo di cura seguito con alcune varianti, come ben si comprende, a seconda dell'età e della costituzione degli infermi.

Dei 39 così curati 10 (9 bambini da 1-9 anni e una donna di 70 anni) morirono in preda a spasimi e sofferenze le più atroci e in un tempo variabile dagli 8 ai 20 giorni di malattia.

I sintomi caratteristici furono in generale quelli della dissenteria grave quali appunto le enterorragie frequenti per ulcerazioni intestinali, il prolasso ulcerato del retto, l'emissione di grossi lembi di mucosa necrosata e di puzzo nauseabondo, l'anoressia completa e il collasso che segnava la fine delle sofferenze dei poveri infermi.

Negli altri, come si è detto, la cura fu dovuta protrarre per molto tempo non solo, ma il periodo della convalescenza fu lunghissimo, e complicato anche a recidive di qualche importanza.

In queste ben tristi circostanze non accennando l'epidemia a diminuire si fece ricorso alla cura sieroterapica mediante il siero antidissenterico Celli-Valenti preparato nell' Istituto sieroterapico milanese del prof. Belfanti.

Coi campioni inviati furono immediatamente iniziate le cure nei casi più gravi conoscendosi già per esperienze fatte nella Clinica Pediatrica di Roma (Valagussa) e nell'Ospedale civico di Udine (Berghinz) i benefici effetti che si erano ottenuti negli anni precedenti.

I casi sottop sti al trattamento sieroterapico raggiunsero il numero di 11 e si uguagliarono tutti per gravità. Di questi, 8 guarirono rapidamente e completamente, 1 morì, essendo in condizioni preagoniche quando fu inoculato il siero. Negli altri 2 che erano malati da 15-20 giorni, si ebbe esito incerto, essendo stata praticata una sola iniezione perchè il siero veniva a mancare e casi ben più gravi lo richiedevano.

Crediamo utile riportare brevemente a maggior dilucidazione le storie cliniche degli infermi.

STORIA CLINICA N. 1.

Monti Lanno di anni 75, contadino, è preso il giorno 7 ottobre da dolori addominali improvvisi, dapprima intermittenti, poi continui. Scariche diarroiche verdastre, nella notte dolore localizzato nell'escavazione del sacro, stimolo impellente all'evacuazione.

Nel giorno seguente persistono i medesimi fatti: tenesmo più imperioso, evacuazioni sanguinolente più del giorno innanzi, tenesmo vescicale.

Nel mattino del giorno 9 temperatura subnormale, lingua arrossata, ventre meteorico dolentissimo, incipiente prolasso rettale e noduli emorroidari turgidi. Le feci rappresentate da liquido sanguinolento presentano muccosità detrite e veri sfaldamenti epiteliali della mucosa intestinale.

Al mezzogiorno s'inietta il primo vasetto di siero antidissenterico (gr. 15 sotto la cute dell'addome), e si sospende qualunque somministrazione di medicamenti.

Alla sera le condizioni dell'infermo sono notevolmente migliorate: le evacuazioni sono ridotte a 4 in un'ora, il tenesmo è meno doloroso; i dolori addominali hanno in parte ceduto. L'infermo è più sollevato.

Nel giorno seguente il miglioramento è più accentuato; è cessato il tenesmo vescicale.

Essendo nel giorno 11 ottobre aumentate le deiezioni viene praticata una seconda iniezione con applicazione caldo-umida sul ventre.

Durante il giorno le evacuazioni sono ridotte ad una all'ora, e presentano qualche lieve stria sanguinolenta.

Il 16 ottobre potè ritenersi guarito.

Storia clinica n. 2.

Chiaravalle Angelo, di anni 40, contadino, dissenterico da 2 giorni, ha emissioni di sangue e muco spumeggiante di colorito giallo-verdastro. Dolori dapprima vaganti indi localizzati nella fossa iliaca sinistra e nel retto: sete intensa, iperestesia di tutta la parete addominale, progressivo esaurimento di forze.

Senza somministrare alcun altro rimedio si pratica una iniezione nella regione dorso-lombare non tollerando alcun contatto l'addome.

Si ebbe, come primo vantaggio, diminuzione dei dolori e delle deiezioni che mantennero però i propri caratteri.

Il giorno 11 2ª iniezione, nella regione addominale, essendo scomparsa la dolorabilità del dì avanti. Tenesmo scomparso, dolori pure, poco sangue colora le materie fecali ancora abbondantemente mucose.

Nella notte comparve nuovamente il tenesmo.

Nel giorno si pratica perciò una terza iniezione.

Tutti i sintomi migliorano, persiste solo la sete.

Evacuazioni ridotte a 3-4 durante le 24 ore.

L'ammalato si dichiara guarito e si prescrivono per eliminare i postumi dell'infezione le pillole antidissenteriche del Segond.

Durata dell'infermità giorni 11.

Siero impiegato cc. 30.

Storia clinica n. 3.

Proietti Maria, di anni 65, dissenterica da qualche giorno. Ha tenesmo doloroso ed emissione di muco e sangue in discrete quantità. Tenesmo vescicale, prostrazione di forze.

Venne prescritta dieta liquida e riposo assoluto.

Si inietta 10 cmc. di siero.

Alla sera miglioramento manifesto.

Numero delle evacuazioni molto ridotto.

Durante la notte potè ristorare le esauste forze.

Nel giorno seguente tenesmo quasi cessato, evacuazioni scarse di numero con poco sangue.

Nuova iniezione di 8 cmc. di siero.

Cessano le emissioni di sangue, persiste il dolore rettale che scompare a poco a poco con somministrazione di tannoformio e polveri tebaiche.

Il 15 ottobre cioè circa dopo 9 giorni di malattia si può dire guarita.

STORIA CLINICA N. 4.

Terzoli Maria, di anni 65, colona. Dissenterica da due giorni con dolori addominali, e ripetute evacuazioni con tenesmo crescente e con comparsa di muco e sangue frammisto a detriti e sfaldamenti epiteliali.

Senza essere sottoposta ad alcun altro trattamento viene inoculata con 15 grammi di siero.

Cessarono il giorno dopo i dolori; il tenesmo si modificò e le evacuazioni si fecero alquanto più rare, persistette il sangue.

Tenendo ad aumentare nel secondo giorno il tenesmo e le evacuazioni si iniettò il contenuto di un altro vasetto di siero.

Al terzo giorno il miglioramento ricomparve, diminuì il sangue e l'inferma potè trovare riposo.

Praticata un'altra iniezione le evacuazioni divennero rarissime e punto dolorose, le materie fecali apparvero quasi sprovviste di muco.

Nel giorno dopo l'ultima iniezione non rimasero che dolori ventrali e un vomito insistente che venne domato mercè la cocaina e il mentolo.

I dolori ventrali persistettero ancora qualche giorno, dopo di che l'inferma fu ritenuta guarita.

La durata della malattia fu di giorni 8 e il siero iniettato raggiunse i 47 cmc.

STORIA CLINICA n. 5.

Taruffi Giovanni, d'anni 45, di Bagnaia. Dissenterico da tre giorni evacua da 10 a 15 volte all'ora discreta quantità di muco sanguinolento. Dolori violenti e febbre a 39°. Gli viene somministrato un purgante oleoso.

Il giorno 25 ottobre si pratica la prima iniezione di 15 cmc. di siero.

Il giorno dopo si ha crisi sudorale.

Tenesmo e dolori addominali molto mitigati; feci mucose molto meno sanguinolente.

Viene praticata la seconda iniezione di altri 15 cmc. di siero.

Persiste il miglioramento.

Nella notte recrudescenza dei dolori e del tenesmo, però le evacuazioni sono prive di sangue e vanno acquistando consistenza poltacea, frammiste a poca mucosità.

Iniezione di altri 15 cmc. di siero e di un cg. di morfina. Alla sera ha avuto tre sole evacuazioni poltacee; i dolori sono cessati.

Il 28 ottobre l'infermo esce di casa per le sue occupazioni essendo completamente guarito.

STORIA CLINICA n. 6.

Terzoli Caterina, di anni 15. Dissenterica da qualche giorno; il 24 ottobre non essendosi curata nè avendo preso precauzioni dietetiche emette dopo varii tentativi di defecazione circa 150 gr. di sangue.

Il 25 ottobre si pratica l'iniezione del siero.

26 ottobre. Durante la notte i dolori si sono calmati come pure il tenesmo. Le scariche contengono pochissimo sangue; 2ª iniezione.

27 ottobre. L'inferma ha trascorso la notte tranquillissima, ha evacuato tre volte solamente. I dolori sono cessati. Non vi è più traccia di sangue nelle scariche.

Si pratica una terza iniezione.

28 ottobre. Cessano i dolori e il tenesmo.

Due sole scariche quasi normali in 12 ore.

29. L'inferma è ristabilita, per maggior precauzione prende qualche pillola del Segond.

STORIA CLINICA n. 7.

Iocomelli Teresa, di anni 2. Da qualche giorno emette frequentemente muco e sangue, è leggermente frebbricitante — mucosa orale fortemente arrossata, sete intensa. Le viene somministrato calomelano e polvere del Dower senza alcun risultato.

Il 25 ottobre s' iniettano otto cmc. di siero.

26 ottobre. Si avverte poco miglioramento nel tenesmo: le mucosità non sono più tanto sanguinolente. È più tranquilla. Si iniettano altri 8 cmc. di siero.

27. Riposa più di frequente: la sete è scomparsa, domanda da mangiare. Le deiezioni presentano appena qualche traccia di sangue.

Terza iniezione di siero.

28. Il miglioramento ha progredito fra la notte ed il mattino: ha avuto quattro evacuazioni di materie quasi normali.

29. Il miglioramento prosegue.

STORIA CLINICA n. 8.

Scevola Colomba, di anni 18. Dissenterica da tre giorni. Dolori addominali violentissimi. 30-40 scariche nelle 24 ore. Emette sangue, muco e detriti di mucosa intestinale. È stata purgata con lassativi oleosi senza risultato.

4 novembre, iniezione di siero. Dopo qualche ora si calmano i dolori e le scariche si riducono poco a poco rendendosi più facili le evacuazioni.

5 novembre due scariche durante la notte e due nella mattinata.

Il sangue è scomparso: persistono abbondanti il muco e i detriti epiteliali. Non v'è più tenesmo.

2ª iniezione

6 novembre. L'inferma ha avuto due scariche poltacee e senza dolori. Condizioni generali ottime.

7 novembre. Sta bene.

STORIA CLINICA n. 9.

Cime Antonio, anni 2, Vitorchiano. È dissenterico gravemente da dieci giorni; necrosi della mucosa intestinale; condizioni generali gravissime; nessuna speranza del più lieve miglioramento.

Prognosi infausta senza riserva.

L'11 ottobre s'iniettano 10 grammi di siero antidissenterico; ipodermoclisi di siero fisiologico. Morto alle ore 24.

STORIA CLINICA n. 10.

Lampa Giuseppa, di anni 25 È dissenterico da 20 giorni: dolori addominali violenti, continui; gravi emissioni di sangue.

Il 10 ottobre iniezione di 15 gr. di siero. Nessun miglioramento. Per mancanza di siero non si praticano altre iniezioni.

STORIA CLINICA n. 11.

Presutti Francesco, di anni 70. Dissenterico da 15 giorni, tormentato da dolorosissimo tenesmo ribelle a qualunque trattamento.

Il 10 ottobre iniezione di 15 gr. di siero. Miglioramento transitorio. Per mancanza di siero non si praticano altre iniezioni.

Conclusioni.

Il siero anticolidissenterico Celli-Valenti è veramente efficace a combattere la dissenteria, ne riduce gradatamente i sintomi più minacciosi, impedisce il progredire delle lesioni anatomiche mostrandosi superiore a qualunque altro trattamento.

I postumi residuali del trattamento siero-terapico sono facilmente vinti con la congrua dieta e con opportune cure farmacologiche.

Perchè il siero sia realmente efficace bisogna adoperarlo nell'esordire della malattia o nei primi tre o quattro giorni.

È innocuo assolutamente: è tollerato da tutti e in tutte le età; non dà reazioni generali o locali e le iniezioni risultano pochissimo dolenti.

Nel modo in cui ora viene preparato occorrono almeno da 30 a 45 cmc. di siero per ottenere lo stabile miglioramento. Le iniezioni si devono seguire giornalmente senza interruzione.

Il siero antidissenterico non spiega alcuna azione efficace nei casi avanzati quando sono già stabilite gravi lesioni anatomiche.

Roma-Vitorchiano, marzo 1902.

Istituto d'Igiene sperimentale della R. Università di Roma

Sul potere emolitico delle brodoculture di varî germi patogeni e non patogeni

Ricerche del dott. **P. PASQUINI.**

Le recenti ricerche sui prodotti culturali che i batteri formano nelle culture, hanno dimostrato che molti germi sono capaci di produrre delle sostanze, le quali distruggono gli eritrociti del sangue di diversi animali.

Essi sono fino ad oggi:

Gli stafilococchi, lo streptococco, il micrococcus candicans, il micrococcus aurantiacus, il vibrio paris, il vibrio Metschnikoff, il vibrio berolinensis, il vibrio danubicus, il vibrio phosphorescens, il vibrio cholerae, il vibrio tyrogenes, il vibrio aquatilis, il vibrio massaua, il vibrio Finkler, il diplococco di Fränkel, il diplococco (varietà neurotossica) Panichi, e secondo alcuni il tifo.

Le sostanze che emolizzano i corpuscoli rossi degli animali, si producono nei brodi alcalini; passano attraverso il filtro di porcellana; resistono sino a 50-55 gradi; precipitate coll'alcool, conservano la loro azione per alcuni germi (Vibrioni, secondo Masi) e non per altri (Diplococco, secondo Montella).

Alcune di queste emolisine sono ostacolate da antiemolisine, esistenti in sieri normali (Vibrio paris, secondo Clermont).

Altre invece non sono ostacolate neppure dai sieri antiemolitici (Vibrio Metschnikoff, secondo Masi).

Questo in breve quanto si sa circa le emolisine dei batteri.

***

Io ho ripreso questo studio, proponendomi di rispondere ai seguenti quesiti:

1° Le emolisine batteriche sono esclusive dei germi patogeni, o possono invece ritrovarsi anche nei germi banali?

2° Le emolisine batteriche sono specialmente diffuse nei germi proteolizzanti?

3° Le emolisine batteriche hanno relazione con altri prodotti batterici?

4° È possibile sulle emolisine batteriche stabilire delle diagnosi differenziali fra germe e germe?

***

Diffusione delle emolisine batteriche nei varii gruppi dei germi. — Allo scopo di rispondere al primo quesito che mi ero proposto, mi sono procurato un certo numero di germi, patogeni e non patogeni, servendomi di quanti me ne poteva offrire la collezione di questo Istituto, ed isolandone in parte dall'acqua Felice, dall'acqua Marcia, dalle feci e da carni in putrefazione.

Ho così potuto studiare il modo di comportarsi di brodoculture filtrate di

a) ifomiceti.
b) oidii,
c) blastomiceti,
d) streptothrix,
e) bacilli,
f) batteri,
g) vibrioni,
h) cocchi,
i) sarcine,

su eritrociti di coniglio o di cavia e di uomo sani, facendo la prova con brodoculture di 24 ore e con brodoculture di 10-12 giorni.

Riguardo alla tecnica usata, mi sono servito della prova diretta, o dei metodi di Neisser-Wechsberg e London e sono venuto alle conclusioni esposte nei seguenti elenchi:

IFOMICETI - OIDII - BLASTOMICETI	Fluidificano la gelatina	Prova con brodoculture di 24 ore		Prova con brodoculture di 10-12 giorni		Metodo seguito
		Sangue di cavia	Sangue umano	Sangue di cavia	Sangue umano	
Pennicillium glaucum	Fluidifica	—	—	—	—	Diretto.
Id. brevicaule	..	—	—	—	—	Id.
Aspergillum glaucum	Fluidifica	—	—	—	—	Id.
Mucor mucedo	Id.	+	+	—	—	Id.
Oidium lactis	..	—	—	—	—	Id.
Oidium I	..	—	—	—	—	Id.
Id. II	..	—	—	—	—	Id.
Id. III	..	—	—	—	—	Id.
Saccaromices albus	..	—	—	—	—	Id.
Id. roseus	..	—	—	—	—	Id.
Blastomicete albo rotondo	..	+	+	+	+	Id.
Blastomices I da feci (Casagrandi)	..	—	—	—	—	Id.
Id. II id. (id.)	..	—	—	—	—	Id.
Id. III id. (id.)	..	—	—	—	—	Id.
Id. IV id. (id.)	..	—	—	—	—	Id.
Ruber Hefe (Casagrandi)	..	—	—	—	—	Id.

STREPTOTRIX - BACILLI	Fluidificano la gelatina	Prova con brodoculture di 24 ore		Prova con brodoculture di 10-12 giorni		Metodo seguito
		Sangue di cavia	Sangue umano	Sangue di cavia	Sangue umano	
Streptotrix alba	..	—	—	—	—	Diretto.
Id. citrea	..	+	+	—	—	Id.
Id. albida	..	—	—	+	+	Id.
Actinomyces bovis	..	+	—	+	—	Id.
Bacterium mallei	..	—	—	—	—	Id.
Id. tubercolosis	..	—	—	—	—	Id.
Batterio della difterite (Loeffler)	..	+ ?	—	—	—	Id.
Id. id. (Concetti)	..	+	+	—	—	Id.
Id. pseudotubercolare (Rabinowitsch)	..	+	+	—	—	Id.
Id pseudodifterico (Loeffler)	..	+	+	—	—	Id.

STREPTOTRIX - BACILLI	Fluidificano la gelatina	Prova con brodoculture di 24 ore		Prova con brodoculture di 10-12 giorni		Metodo seguito
		Sangue di cavia	Sangue umano	Sangue di cavia	Sangue umano	
Bacillo del carbonchio	Fluidifica	—	—	—	—	Diretto.
Id. del tetano	Id.	—	—	—	—	Id.
Id. del carbonchio sintomatico	Id.	+ +	+ +	+ +	+ +	London.
Id. dell'edema maligno	Id.	+ +	+ +	+ +	+ +	Id.
Id. micoides	Id.	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	Neisser Wechsberg.
Id. radicosus	Id.	—	—	—	—	Diretto.
Id. subtilis	Id.	+ + + +	+ +	+ + +	+ +	London.
Id. megaterius	Id.	+ +	+ +	+ +	+ +	Id.
Id. mesentericus	Id.	+	+	+	+	Diretto.
Id. dendriticus	Id.	+ + + +	+ + + +	+ + +	+ + +	Neisser Wechsberg.

BATTERI - VIBRIONI	Fluidificano la gelatina	Prova con brodoculture di 24 ore		Prova con brodoculture di 10-12 giorni		Metodo seguito
		Sangue di cavia	Sangue umano	Sangue di cavia	Sangue umano	
Bacterium Zopfii	..	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?	Diretto.
Id. pestis	..	—	—	—	—	
Batterio del mal rosso dei suini.	..	+	+	+	+	Id.
Id. del tifo (due culture di diversa provenienza).	..	—	—	—	—	Id.
Id. coli	..	—	—	—	—	Id.
Id. coli dissenterico (Celli)	..	+ +	+ +	+ +	+ +	Id.
Id. coli dissenterico (Syga).	..	—	—	—	—	Id.
Id. tifosimili (n. 20)	..	—	—	—	—	Id.
Id. colisimili (n. 25)	..	—	—	—	—	Id.
Id. del tifo dei topi.	..	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	London.
Id. proteo volgare.	Fluidifica	—	—	—	—	Diretto.
Id. dell'acido lattico (Hüeppe). . . .	..	—	—	—	—	Id.

BATTERI - VIBRIONI	Fluidificano la gelatina	Prova con brodoculture di 24 ore		Prova con brodoculture di 10-12 giorni		Metodo seguito
		Sangue di cavia	Sangue umano	Sangue di cavia	Sangue umano	
Batterio Friedländer.	..	—	—	—	—	Diretto.
Id. prodigioso	Fluidifica	+	+	+	+	Id.
Id. piocianeo (due varietà)	Id.	—	—	+	+	Id.
Bacterium fluorescens liquefaciens	Id.	+ + + +	+ + + +	+ + +	+ + +	Neisser Wechsberg.
Id. id. non liquefaciens . .	..	+ +	+ +	+ +	+ +	Id.
Id. id. putidum.	Fluidifica	+ +	+ +	+ +	+ +	Id.
Id. liquefaciens	Id.	—	—	—	—	Diretto.
Id. liquidum	Id.	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	Neisser Wechsberg.
Id. viscosum	Id.	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	Id.
Batterio del latte bleu.	..	+	+	—	—	Diretto.
Id. fosforescente	Fluidifica	—	—	—	—	Id.
Id. violaceo	..	+	+	—	—	Id.

BATTERI - VIBRIONI	Fluidificano la gelatina	Prova con brodoculture di 24 ore		Prova con brodoculture di 10-12 giorni		Metodo seguito
		Sangue di cavia	Sangue umano	Sangue di cavia	Sangue umano	
Bacterium aquatilis	Fluidifica	—	—	—	—	Diretto.
Id. album non fluidificans	..	—	—	—	—	Id.
Id. aurantiacum	..	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	London.
Id. nubilum	..	+	—	—	+	Diretto.
Id. eritreum	..	—	—	—	—	Id.
Batterio giallo	..	+	+	+	+	Id.
Vibrio cholerae (Masi)	Fluidifica	+	—	+	—	Id.
Id. Metschnikoff (id.)	..	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	London e Neisser Wechsberg.
Id. Berolinensis (id.)	..	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	Id.
Id. Danubicus (id.)	..	+	—	—	—	Diretto.
Id. phosphorescens (id.)	..	+	—	—	—	Id.
Id. tyrogenes (id.)	..	+	—	—	—	Id.
Id. Finkler (id.)	..	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	London e Neisser Wechsberg.
Id. aquatilis	..	+	+	+	+	
Id. massaua	..	+ +	+ +	+ +	+ +	
Id. lingualis	..	—	—	—	—	

MICROCOCCHI - SARCINE	Fluidificano la gelatina	Prova con brodoculture di 24 ore		Prova con brodoculture di 10-12 giorni		Metodo seguito
		Sangue di cavia	Sangue umano	Sangue di cavia	Sangue umano	
Stafilococco aureo	Fluidifiea	+	+	+	+	Diretto.
Id. albo	Id.	+	+	+	+	Id.
Id. cereo-albo	..	+	+	+	+	Id.
Id. cereo-flavo	..	++	++	++	++	Id.
Micrococcus candicans	..	++	++	++	++	Id.
Id. aurantiacus	..	++	++	++	++	Id.
Streptococco	..	++	++	+	+	Id.
Diplococco di Fränkel	..	+++	+++	+++	+++	Id.
Tetrageno albo	..	++	++	—	—	Id.
Micrococcus flavus desidens.	Fluidifica	+	+	+	+	Id.
Id. agilis.	Id.	—	—	—	—	Id.
Sarcina lutea	..	—	—	—	—	Id.
Id. rosea	Fluidifica	—	—	—	—	Id.
Id. eritromyxa	Id.	—	—	—	—	Id.
Id. pulchra	..	—	—	—	—	Id.
Id. incarnata (Gruber)	..	+	+	+	+	Id.

Come risulta dagli elenchi precedenti, posseggono un' emolisina che distrugge gli eritrociti delle cavie o del coniglio e dell'uomo:

1 muffa su 4,
nessun oidio,
1 blastomicete su 8,
6 streptotrix su 10,
7 bacilli su 10,
15 batteri su 30,
9 vibrioni su 10,
10 micrococchi su 11,
1 sarcina su 5.

Dallo stesso elenco risulta che posseggono un' emolisina batterica i seguenti germi patogeni e non patogeni.

Fra i germi patogeni:

1° *l'actinomyces bovis,*
2° *il b. della difterite* (Loeffler)
3° » *della difterite* (Concetti)
4° » *del carbonchio sintomatico,*
5° » *dell'edema maligno,*
6° » *del mal rosso dei suini,*
7° » *coli dissenterico* (Celli),
8° » *del tifo dei topi,*
9° *il vibrione di Metschnikoff, di Finkler, il tyrogenes, il phosphorescens, l'aquatilis, il lingualis,*
10° *il vibrione Berolinensis, il danubicus, il massaua,*
11° *gli stafilococchi,*
12° *lo streptococco,*
13° *il diplococco di Fränkel;*

e fra i non patogeni:

1° *il mucor mucedo,*
2° *un blastomicete albo rotondo,*
3° *la streptotrix citrea,*
4° » *albida,*
5° *il b. pseudo difterico* (Löffler),
6° » *pseudo tubercolare* (Rabinowitsch),
7° » *micoide,*
8° » *sottile,*
9° » *megaterio,*
10° » *mesenterico,*

11° *il b. dendritico,*
12° » *prodigioso,*
13° » *piocianeo,*
14° » *fluorescens liquefaciens,*
15° » *fluorescens non liquefaciens,*
16° » *fluorescens putidum,*
17° » *liquidum,*
18° » *viscosum,*
19° » *violaceum,*
20° » *aurantiacum,*
21° » *nubilum,*
22° » *giallo,*
23° » *del latte bleu,*
24° *il micrococcus candicans,*
25° » *aurantiacus,*
26° » *flavus desidens,*
27° *il tetrageno albo,*
28° *la sarcina incarnata* (GRUBER).

Le emolisine batteriche sono dunque diffuse in tutto il gruppo dei germi patogeni e non patogeni.

Non si può quindi stabilire una relazione tra la produzione di una emolisina, e la presenza di proprietà patogene verso gli animali da parte dei germi che posseggono proprietà emolitiche.

***

Diffusione dell' emolisina batterica nei germi proteolizzanti e non proteolizzanti. — Il BAJARDI aveva veduto che col cessare delle proprietà proteolitiche negli stafilococchi, si perdeva l'azione emolitica dei medesimi (1). Ciò poteva far credere ad una relazione intima fra proteolisi ed emolisi.

Studiai quindi l'azione emolitica delle brodoculture di diversi germi proteolizzanti e di diversi germi non proteolizzanti, patogeni e non patogeni; e trovai:

che di tre muffe proteolizzanti, 1 era emolitica, 2 no;
che di 10 bacilli, tutti proteolizzanti, 7 erano emolitici, 3 no;
che di 10 batteri proteolizzanti, 5 erano emolitici, 5 no;
che di 20 batteri non proteolizzanti, 10 erano emolitici, 10 no;

(1) Questi Annali, Vol. XII, 1901.

che di 9 vibrioni, tutti proteolizzanti, tutti erano emolitici;
che di 4 micrococchi proteolizzanti, 3 erano emolitici, 1 no;
che di 7 micrococchi non proteolizzanti, tutti erano emolitici;
che di 2 sarcine proteolizzanti, nessuna era emolitica;
che di 3 sarcine non proteolizzanti, 1 era emolitica, 2 no.

Ciò vuol dire, che *vi sono dei germi proteolizzanti i quali non posseggono proprietà emolitiche come ve ne sono alcuni che le posseggono;* e che ugualmente, fra i germi non proteolizzanti, alcuni posseggono proprietà emolitica, altri no.

***

Rapporti tra le emolisine con altri prodotti batterici. — Gli studi già fatti, circa il modo di diportarsi delle brodoculture emolizzanti al calore, avevano dimostrato il diportamento analogo delle emolisine cogli enzimi. Le emolisine infatti si distruggono in genere alla temperatura di 50-60 gradi, dopo un periodo non molto lungo; passano attraverso il filtro di porcellana; sono precipitabili con alcool.

Le mie ricerche sul proposito mi hanno condotto a trovare i fatti esposti nella seguente tabella:

GERMI STUDIATI	Intensità emolitica delle brodoculture di 6 giorni	Tenuta a 40 gradi per 1 ora	Tenuta a 50 gradi per 1 ora	Tenuta a 60 gradi per 1 ora	Dopo il passaggio attraverso il filtro di porcellana	Dopo la precipitazione dell'alcool
Bacillus micoides	++++	+	+	—	+	+
Id. subtilis	++++	+	+	—	+	+
Id. dendritic s	++++	+	+	—	+	+
Batterio del tifo dei topi	+++	+	+	—	+	+
Bacterium fluorescens liquefaciens	++++	+	+	—	+	+
Id. liquidum	+++	+	+	—	+	+
Id. viscosum	+++	+	+	—	+	+
Id. aurantiacum	+++	+	+	—	+	+
Vibrio Metschnikoff	+++	+	+	—	+	+
Vibrio Berolinensis	+++	+	+	—	+	+
Vibrio Finkler	+++	+	+	—	+	+
Diplococco di Fränkel	+++	+	+	—	+	+
Micrococcus candicans	++	+	+	—	+	+
Streptococco	++	+	+	—	+	+

Le emolisine batteriche, diportandosi come gli enzimi, debbono considerarsi appartenenti al gruppo degli enzimi dissolventi, dotati di specificità verso gli eritrociti.

Infatti, dalle ricerche da me fatte, risulta che le emolisine da me studiate non hanno azione su altri elementi cellulari. Non digeriscono altresì in alcun modo l'albumina del sangue, non distruggono i leucociti.

Non credo però, che si possano ascrivere al gruppo delle nucleasi. Infatti, paragonando l'azione delle emolisine con quella delle batterio-lisine batteriche, si trovano dati discordi. Trattando invero patine di germi proteolizzanti e non proteolizzanti, secondo il metodo del Gamaleïa, con succo gastrico, e il precipitato etereo-alcoolico, disciolto in soluzione di cloruro sodico al 0,85 %, facendolo agire sui corpuscoli rossi di coniglio e di cavia, e sui corpi batterici, non si ottiene alcuna emolisi.

Del resto la costituzione delle emolisine si mostra diversa da quella dell'enzima batteriolitico.

Infatti, mettendo dei corpuscoli rossi di cavia e di coniglio in contatto con brodo-culture emolitiche, a 0 gradi; e trasportando i corpuscoli rossi, in soluzione di cloruro sodico al 0,85 %, a 37 gradi, si ottiene l'emolisi di questi corpuscoli rossi. Ossia, si dimostra nella emolisina un gruppo aptoforo, il quale si fissa agli eritrociti a bassa temperatura.

Viceversa, ripetendo lo stesso procedimento cogli enzimi batteriolitici, sui batteri dai quali questi enzimi provengono, si ottiene la batteriolisi anche a questa temperatura; ma non l'emolisi.

Ciò dimostra che la costituzione della emolisina ha relazione con quella delle tossine, ma non con quella degli enzimi proteolitici.

***

Il potere emolitico come carattere differenziale fra germe e germe. — Riguardo alla possibilità di utilizzare la presenza di sostanze emolitiche nelle brodoculture per facilitare la diagnosi di un determinato germe, risulta quanto segue:

1) che questo criterio non si può applicare nella diagnosi differenziale,

fra il *B del tifo* e il *B coli;*

fra il *B. del tifo* e i *B. tifosimili:*

fra il *B. coli* e i *B. colisimili*;

fra il *B. della difterite* e il *B. pseudodifterico.*

2) che forse si può invece applicare per differenziare alcuni germi del gruppo dei batteri e dei bacilli, come:

il *B. del carbonchio* dal *B. micoides;*

il *B. micoides* dal *B. radicosus:*

il *B. del carbonchio* dal *B. sottile;*

il *B. coli dissenterico* (CELLI) dal *B. coli comune;*

il *V. cholerae* da alcuni *V. colerasimili* (MASI).

Quindi, se questi risultati si confermeranno, la ricerca delle proprietà emolitiche dei germi potrà essere di qualche aiuto nella diagnosi in casi speciali: non si può però dare a questo criterio un valore per ora assoluto.

Conclusione.

Nelle brodoculture di germi patogeni e non patogeni si producono sostanze emolitiche, che hanno i caratteri degli enzimi dissolventi; che sono indipendenti dagli enzimi proteolitici e batteriolitici; che hanno analoga costituzione delle tossine batteriche, e che in casi speciali potranno aiutare la diagnosi differenziale fra i varii germi, simili per altri caratteri.

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI PALERMO

Sull'esito delle inoculazioni batteriche in vagina a mucosa vaginale intatta

Ricerche sperimentali del dott. **FRANCESCO MIRTO**,
assistente nell'Istituto Ostetrico Ginecologico della R. Università di Pavia
diretto dal prof. L. MANGIAGALLI.

I lavori pubblicati in questi ultimi anni, non sono tutti concordi nello stabilire, se i microrganismi che arrivano nella cavità della vagina, vengono uccisi dal muco vaginale, o se possono continuare a vivere nel secreto del canale genitale e conservarvi la loro virulenza.

Menge (1) ha osservato, che il secreto vaginale uccide i batteri, tanto con reazione acida, che anfotera ed alcalina.

Krönig (2) sperimentò su quarantotto donne gravide, con piogeni (streptococci e stafilococci) e vide, che i suddetti batteri scompaiono dalla vagina, in un tempo che varia da sei ore a due giorni; egli crede che questo fatto non succeda per azione meccanica, ma per un potere battericida del secreto vaginale.

Stroganoff (3) ha visto che nelle donne normali, il secreto vaginale ha potere battericida, e che il muco preso dal principio della vagina dà sviluppo di germi, mentre quello del fondo è sterile. Il Winter (4) trovò due cerchi cromogeni nel secreto cervicale dell'utero.

---

(1) *Ueber ein bakterienfeindliches Verhalten der Scheidensekrete Nichtsschwangerer.* Deutsc. Medicin. Wochenschrift, zwanzigster Jahrgang 1894. S. 867.

(2) *Ueber das bakterienfeindliche Verhalten des Scheidensekretes Schwangerer.* Deutsc. Medic. Wochenschrift, 1894, n. 43. S. 819.

(3) *Bakteriologische Untersuchungen des Genitalkanales beim Weibe in verschiedenen Perioden seines Lebens.* Monatschrift f. Geburtshülfe u. Gynäkologie, Bd. II, 1895.

(4) *Die Microrganismen in Genitalscanal des gesunden Frau.* Zeit. f. Geb. u. Gyn. Bd. XIV, H. 2, 1888.

Rossi Doria (1) ritiene, che la migliore protezione per l'organismo nelle puerpere, è data dal potere battericida del secreto vaginale, e dall'integrità dell'epitelio della mucosa.

Il Döderlein (2), per le gravide, divide il secreto in normale e patologico, assegna al. primo, che è fortemente acido, un potere battericida, mentre nel secondo, che è debolmente acido, riferisce di aver trovato molti batteri, e nel quattro per cento dei casi gli streptococci.

Williams (3) e Burckardt (4) confermarono quanto disse Döderlein per il secreto vaginale, ed il primo su cinque gravide in tre trovò gli streptococchi, l'altro li rinvenne nel quattro per cento dei casi.

Bumm (5) ammette, che il secreto normale delle gravide non contiene piogeni, c che nel secreto anormale si rinvengono gli stafilococchi ed accidentalmente gli streptococchi.

Miranda (6) afferma che il secreto vaginale delle gravide non contiene altri microrganismi che il fungo del mughetto ed i gonococchi.

Il Gönner (7) in trentuno esami del secreto vaginale di gravide non trovò piogeni; una sola volta isolò lo stafilococco albo.

Altri autori come il Walthard (8), Vhale (9), il Burguburn (10), il Mironow (11), hanno riscontrato streptococchi nel secreto vaginale di gravide non esplorate. Sapelli (12) porta un contributo di 25 ricerche personali secondo le quali risulterebbe, che nella vagina di donne gravide non esplorate, nel 92 % sono contenuti germi, e precisamente lo stafilococcc piogeno aureo ed il citreo. Non trovò mai streptococci piogeni. Queste ultime osservazioni non sono tali de infirmare il risultato delle esperienze precedenti, giacchè dall'esterno penetrano continuamente dei germi nella vagina, i quali, come risulta dal lavoro di Krönig, hanno bisogno di un certo tempo per essere uccisi.

Il Caselli (1) però, infettando la vagina di tre coniglie gravide con streptococchi virulenti, ebbe ad osservare, che le coniglie fino a tanto che

---

(1) *Ueber die lokalen u. allgemeinen Intoxikationen als praedisponirende Ursache der Puerperalinfektionen.* Beitrag zum Studium des patologischen Wochenbettes. Münch. med. Vochenschr., 1896, n. 51.

(2) *Das Scheidensekret und seine Bedeutung für das Puerperalfieber.* Leipzig, 1892.

(3) American Journal of the med. sciences, 1893.

(4) *Ueber den Einfluss der Scheidenbakterien auf den Verlauf des Wochenbettes.* Archiv für Gynäkologie, Bd. XLV.

(5) Archiv für Gynäkologie, Bd. XXXIV.

(6) Atti della Società Italiana di Ostetricia e Ginecologia, volume I, ottobre 1894.

(7) Centralblatt für Gynäkologie, 1887.

(8) *Bakteriologische Untersuchungen der weiblichen Genitalsekretes in Graviditate und in Puerperium.* Archiv für Gynäkologie, Bd.XLVIII. H. 2.

(9) *Ueber das Vorko men von Streptokokken in die Scheide Gebärender.* Zeitschr. f. Geburtshülfe u. Gynäkologie, Bd. XXXV, H. 2.

(10) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmacologie, Bd. XXX.

(11) *Ueber die Ursachen der puerperalen Erkrankungen.* Centralblatt für Gynäkologie, 1891.

(12) *Infezione puerperale con speciale riguardo alla parte eziologica ed alla parte anatomo patologica.* Tesi di libera docenza in Ost. e Ginec. Annali di Ost. e Ginec., 1889, pag. 892. Recensioni.

durò la gravidanza non risentirono alcun disturbo. Morirono poi tutte di pioemia durante il puerperio.

Il parto avvenne in una dopo quindici, nell'altra dopo ventidue, nella terza dopo quarantacinque giorni dall'inoculazione degli streptococchi in vagina, e morirono, la prima quattro, la seconda undici e la terza dieci giorni dopo il parto.

Come si vede dunque dai lavori citati, l'ultima parola su questa importante quistione non è ancora stata detta, quantunque la maggior parte degli autori attribuisca al secreto vaginale delle non gravide, ed a quello normale delle gravide, un potere battericida.

Or se fosse vero che i batteri, che arrivano nella vagina, vengono uccisi o attenuati dal secreto vaginale, dovrebbe riescire impossibile, o almeno molto difficile, il produrre per questa via una infezione nell'organismo animale.

***

Prescindendo per ora dall'indagare quale fine subiscano i batteri pervenuti in vagina, ho voluto anzitutto assicurarmi, se sia possibile produrre una infezione, locale o generale, spalmando nella vagina di animali sani ed a mucosa non alterata, culture virulente di germi patogeni.

A questo scopo ho iniziato delle esperienze, su coniglie e cavie, nate da pochi giorni, adulte, gravide e puerpere, con culture di pneumococco, carbonchio, stafilococco aureo, tifo e difterite.

La tecnica da me seguita per le esperienze è la seguente.

Ho arrotolato alla punta di una comune ansa di platino un piccolo batuffolo di cotone idrofilo, che avevo precedentemente sterilizzato all'autoclave, tenendolo dentro una pipetta. Ho imbevuto tale batuffolo nella cultura da esperimento, e con leggerissima pressione, lo ho introdotto in vagina, strisciandovelo per tre o quattro volte.

Così ero sicuro di lasciare la mucosa intatta, giacchè il batuffolo per la sua piccolezza penetrava facilmente, senza apportare la più piccola lesione alla mucosa vaginale.

Nella seguente tabella sono riassunte le esperienze da me fatte, ed i risultati ottenuti.

---

(1) (Citato da ACCONCI). *Della asepsi e della antisepsi nel parto.* Annali di Ostetricia e Ginecologia, 1896, n. 1, pag. 13.

TABELLA I.

Animali inoculati			Batteri adoperati per l'inoculazione	Numero degli animali sopravvissuti	Numero degli animali morti
Specie	Numero	Età e stato			
Coniglie .	4	Adulte (non gravide)	*Pneumococco* (cultura in brodo di tre giorni).	4	..
Cavie . .	4	Adulte (non gravide)	*Carbonchio* (cultura in agar di tre giorni).	4	..
Id. . .	4	Gravide	Id. id.	4	..
Id. . .	4	Puerpere	Id. id.	4	..
Id. . .	3	Età giorni 5	Id. id.	3	..
Id. . .	3	Età giorni 3	Id. id.	3	..
Id. . .	3	Adulte (non gravide)	*Stafil. aureo* (cultura in agar di tre giorni)	3	..
Id. . .	2	Gravide	Id. id.	2	..
Id. . .	4	Adulte (non gravide)	*Tifo* (cultura in brodo di 48 ore).	4	..
Id. . .	2	Gravide	Id. id.	2	..
Id. . .	1	Puerpera	Id. id.	1	..
Id. . .	6	Adulte (non gravide)	*Difterite* (cultura in agar glicerinato di 6 giorni)	6	..
Id. . .	4	Gravide	*Difterite* (cultura in brodo glicerinato di sei giorni).	4	..
Id. . .	3	Puerpere	Id. id.	3	..
Id. . .	3	Età giorni 20	Id. id.	3	..
Id. . .	2	Età giorni 5	Id. id.	..	2 (Dopo 6-7 giorni dall'inoculazione).
Id. . .	3	Età giorni 3	Id. id.	..	3 (Dopo 6–7 giorni dall'inoculazione).
Id. . .	3	Età ore 24	Id. id.	..	3 (Dopo 3–6 giorni dall'inoculazione).

Queste esperienze mostrano, almeno per le specie batteriche da me adoperate, che non è possibile di produrre per la via vaginale un'infezione nell'organismo, neanche durante la gravidanza ed il puerperio; solamente col bacillo della difterite, si è avuta la morte delle cavie neonate, fino a cinque giorni di età, tutti gli altri batterii con cui ho sperimentato, non hanno arrecato agli animali alcun disturbo apprezzabile; e notisi che col carbonchio, ho esperimentato anche su cavie nate da pochissimi giorni.

Con ciò non si esclude, beninteso, che altri batterii, diversi da quelli adoperati in queste esperienze, possano comportarsi differentemente. Cito, ad esempio, il bacillo tubercolare, la cui infettività per la via vaginale, anche nello stato normale, è dimostrata da alcune poche ricerche fatte dal Dobroklowsky (1) sotto la direzione di Cornil, da altre eseguite da Guzzoni Degli Ancarani (2), e da molte altre che sono state intraprese in questo Istituto.

***

Tuttavia, anche ammettendo che una parte dei microrganismi penetrati nella vagina, vengano uccisi dal secreto vaginale, o eliminati per altre cause, non resta esclusa la possibilità che altri, penetrando attraverso la mucosa, possano arrivare nello interno dell'organismo, senza che questo reagisca in maniera per noi apprezzabile.

Alcuni lavori, tra cui quello del Pizzini (3), che su trentotto esperienze, dodici volte trovò bacilli tubercolari nei gangli peribronchiali di individui non tubercolosi, morti per traumi o per malattie acute, nonchè quello recente di Perez (4) fatto in questo laboratorio, sul parassitismo microbico latente nei gangli linfatici normali, richiamarono la mia attenzione su questo punto; e consigliato anche dal prof. Manfredi, che mi è stato largo di suoi suggerimenti, ho pensato di ricercare nei gangli linfatici limitrofi i batteri che introducevo in vagina.

---

(1) *Note sur le développement de la tuberculose après l'introduction dans l'organisme des bacilles tuberculeux par le tube digestif et par le vagin.* Paris, G. Masson, 1889, pag. 265.

(2) Rivista di Ostetricia e Ginecologia. Anno I, 1890, n. 21 e 22.

(3) *De la présence des bacilles tuberculeux dans les ganglions lynphatiques indemnes de tuberculose.* Semaine Médicale, 1893, pag. 60

(4) *Del modo di comportarsi del sistema ganglionare linfatico etc.* Parte prima. Questi Annali, vol. VII (nuova serie), 1897.

Sul passaggio dei batteri attraverso la mucosa vaginale, tranne che per la tubercolosi, non abbiamo nessun lavoro, e quelli sulla mucosa delle vie aeree e digerenti, non ci autorizzano a fare delle conclusioni assolute.

Il criterio prevalso tra gli autori che hanno sperimentato sulla mucosa respiratoria e digerente, per giudicare della eventuale penetrazione dei microrganismi attraverso tali mucose, è stato quello di fondarsi sopra gli ordinarii sintomi delle infezioni, sintomi che mancano, quando si ammetta che dei germi possano penetrare nell'organismo senza arrecare alcun disturbo apparente.

Le mie ricerche hanno avuto appunto lo scopo di chiarire questa importante quistione.

Anche in questa parte del lavoro, ho condotte le esperienze su animali normali, nonchè su gravide e puerpere, per rilevarne le eventuali differenze.

Come batteri da esperimento ho scelto il prodigioso ed il bacillo del carbonchio, perchè questi microrganismi non sono stati mai trovati dal Perez nei gangli linfatici normali, e quindi la loro presenza in essi, sarebbe intimamente collegata con la penetrazione attraverso la mucosa; ed anche perchè i medesimi sono facilmente riconoscibili per le loro colonie caratteristiche.

È da notarsi inoltre, che la coltura di carbonchio da me adoperata, era fortemente virulenta, e quella di prodigioso ad alte dosi riescivapa togena.

Ho spalmato in vagina le culture da esperimento con le stesse precauzioni già dette, e seguendo lo stesso metodo che sopra ho descritto.

Ho ucciso gli animali ad intervalli di tempo differenti (da 1 a 9 giorni), con un colpo alla nuca, e dopo tagliati i peli, ho disinfettato l'addome con abbondanti lavaggi di acqua al sublimato, ed usando strumenti sterilizzati e che continuavo a sterilizzare alla lampada, ho aperto la cavità addominale.

Con la massima celerità ho asportato i gangli linfatici da esaminare, depositandoli in una provetta contenente acqua e cloruro sodico a titolo fisiologico, già sterilizzata, li ho lavati ripetutamente cambiando la soluzione, allo scopo di pulirne bene la superficie, e dopo li ho portati in un tubo contenente agar fuso già alla temperatura di 38° C.

Sulla parete di questo tubo ed attraverso il tappo di ovatta, li ho tagliuzzati minutamente, per mezzo di una piccola forbice sterilizzata, e mescolatili per bene con l'agar, ho allestito delle piastre, che ho tenuto a temperatura costante di 37° C.

I gangli che ho asportato sono gli inguinali, i lombari o parte dei pelvici, e dico parte, perchè mi riesciva difficile, stante la loro piccolezza nelle cavie, asportare igangli i pogastrici e più ancora i sacrali, che spesso nella operazione si schiacciavano tanto da non potere essere più utilizzati.

Per ogni esperienza, a titolo di controllo, ho fatto colture in piastre dal sangue, dalla milza e dal rene.

Nella seguente tabella espongo le esperienze fatte su cavie normali, non gravide nè puerpere, e i risultati ottenuti.

TABELLA II.

Animali da esperimento			Batteri adoperati per l'inoculazione	Tempo dopo il quale si è ucciso l'animale	Numero delle colonie ottenute dai diversi organi	Osservazioni
Specie	Num.	Età e stato				
Cavie	8	Adulte non gravide	*Prodigioso* (cultura in agar di 3 giorni)	24 ore	gangli da 2 a 9	
					sangue 0	
					milza 0	
					rene 0	
Id.	10	Id.	Id.	48 ore	gangli da 8 a 57	
					sangue 0	
					milza 0	
					rene 0	
Id.	5	Id.	Id.	3 giorni	gangli da 8 a 30	
					sangue 0	
					milza 0	
					rene 0	

Animali da esperimento			Batteri	Tempo dopo il quale si è ucciso l'animale	Numero delle colonie ottenute dai diversi organi	Osservazioni
Specie	Num.	Età e stato	adoperati per l'inoculazione			
Cavie	4	Adulte non gravide	*Carbonchio* (cultura in agar di 3 giorni)	24 ore	gangli da 1 a 4 sangue 0 milza 0 rene 0	
Id.	9	Id.	Id.	48 ore	gangli da 4 a 14 sangue 0 milza 0 rene 0	Da alcune colonie ottenute dai gangli, ho fatto delle culture in brodo; la inoculazione di queste culture nel sottocutaneo di altre cavie, ne ha prodotto la morte in 36 ore.
Id.	6	Id.	Id.	3 giorni	gangli da 2 a 12 sangue 0 milza 0 rene 0	Fatta una cultura in brodo da colonie ottenute dai gangli, ed inoculata nel sottocutaneo una cavia, questa è morta dopo 40 ore.
Id.	5	Id.	Id.	4 giorni	gangli da 2 a 10 sangue 0 milza 0 rene 0	

Animali da esperimento			Batteri adoperati per l'inoculazione	Tempo dopo il quale si è ucciso l'animale	Numero delle colonie ottenute dai diversi organi	Osservazioni
Specie	Num.	Età e stato				
Cavie	5	Adulte non gravide	*Carbonchio* (cultura in agar di 3 giorni)	5 giorni	gangli da 2 a 7 sangue 0 milza 0 rene 0	
Id.	5	Id.	Id.	6 giorni	gangli da 2 a 4 sangue 0 milza 0 sene 1 (in una sola cavia)	Dalla colonia ottenuta dal rene si è fatta cultura in agar, la inoculazione di essa nel sottocutaneo di una cavia, ha prodotto la morte in 7 giorni.
Id.	4	Id.	Id.	7 giorni	gangli da 0 a 2 sangue 0 milza 0 rene 0	
Id.	4	Id.	Id.	9 giorni	gangli 2 (in due sole carie) sangue 0 milza 0 rene 0	Dalla colonia ottenuta dal rene si è fatta cultura in agar, con la quale si è inoculata nel sottocutaneo una cavia, ahe è morta dopo 8 giorni.

Come si vede dunque, si sono riscontrati nei gangli linfatici delle cavie, su cui ho fatto le esperienze, costantemente gli stessi microrganismi che avevo spalmato in vagina, ciò che dimostra, che i batterî hanno dovuto necessariamente attraversare la mucosa intatta.

Non si potrebbe pensare ad una lesione della stessa, giacchè anche una leggerissima ferita, nel caso del carbonchio, stante la penetrazione di alcuni germi nel sangue, avrebbe determinato una infezione generale dell'animale con esito letale, come è successo appunto in due casi, nei quali per bruschi movimenti fatti dalle cavie durante l'inoculazione, erasi lesa leggermente la mucosa, ciò che venne rilevato da una traccia di sangue nel batuffolo.

Neanche potrebbesi ammettere che la penetrazione dei batterî fosse dovuta ad una infiammazione reattiva della mucosa delle vie genitali, perchè già dopo poche ore i batterî si riscontrano nei gangli, e perchè esperienze che esporrò in seguito, hanno dimostrato che la irritazione della mucosa vaginale, si oppone a qualunque penetrazione di germi.

Con queste esperienze non si può escludere che la penetrazione dei batterî riscontrati nei gangli fosse, anche in minima parte, avvenuta attraverso la mucosa uterina, essendo possibile che qualche germe fosse arrivato nell'utero non ostante che io avessi sempre avuto cura di non spingere troppo in fondo il batuffolo, ma di arrestarmi alla prima porzione della vagina.

Il Walthard (1) in un suo lavoro dimostra, che la mucosa uterina, a differenza di quella vaginale è sterile, e spiega sperimentalmente questo fatto, attribuendo al muco del canale cervicale, che è un cattivo terreno di cultura per i batterî che vi arrivano, anche un potere battericida, esercitato in massima parte dai fagociti, che in esso sono mescolati.

Anche il Winter (2) è dello stesso parere, e conclude che la cavità dell'utero e le tube, a differenza della vagina, sono perciò prive di germi.

Lo Stroganoff (3) dice, che il secreto cervicale ha reazione alcalina ed è completamente privo di batterî, anzi gode di potere batte-

(1) *Ueber antibakterielle Schutzwirkung des Mucins.* Centr. f. Bakt. u. Parasit. Bd. XVIII - 1895, n. 9 e 10.

(2) Centralblatt für Gynäklogie, 1895.

(3) *Zur Bakteriologie des Weiblichen Genitalkanals.* Centralblatt für Gynäkologie, 1893.

ricida, difendendo così la cavità uteerina dai germi patogeni, mentre il secreto vaginale ha reazione acida e contiene un gran numero di germi.

Essendo quindi difficilissimo che dei germi arrivino nell'utero, la penetrazione dei batteri, nel nostro caso, deve essere attribuita assai più alla mucosa vaginale che a quella uterina.

In ogni modo per eliminare qualunque dubbio su questo punto, ho asportato l'utero a sei cavie, e dopo 40 giorni dall'operazione, ho spalmato in vagina, in alcune carbonchio virulento, in altre prodigioso.

Uccisi gli animali dopo 60 ore dall'inoculazione, ho isolato dai gangli i bacilli con i quali avevo infettato la vagina.

Queste esperienze dimostrano in maniera evidente, che la mucosa vaginale integra, si lascia attraversare almeno da una parte dei batteri che penetrano in vagina, e che il secreto vaginale, posto che goda di potere battericida, non arriva ad uccidere tutti i germi, che vengono a contatto con esso.

***

Ho fatto anche delle esperienze perfettamente uguali alle riferite, su cavie gravide, in diversi periodi di gravidanza, e su cavie puerpere.

Nella seguente tabella riassumo le esperienze ed i risultati ottenuti.

TABELLA III.

Animali da esperimento			Batteri adoperati per l'inoculazione	Tempo dopo il quale si è ucciso l'animale	Numero delle colonie ottenute dai diversi organi	Osservazioni
Specie	Num.	Età e stato				
Cavie	4	*Gravide* (in principio di gravidanza)	*Prodigioso* (cultura in agar di tre giorni)	48 ore	gangli da 1 a 9	
					sangue 0	
					milza 0	
					rene 0	
Id.	4	*Gravide* (in avanzato periodo di gravidanza)	Id.	Id.	gangli 2 (in una sola cavia)	Il numero delle colonie rinvenute nei gangli, è sempre diminuito con l'inoltrarsi della gravidanza.
					sangue 0	
					milza 0	
					rene 0	
Id.	4	*Gravide* (in principio di gravidanza)	*Carbonchio* (cultura in agar di tre giorni)	Id.	gangli 0	
					sangue 0	
					milza 0	
					rene 0	

Animali da esperimento			Batteri adoperati per l'inoculazione	Tempo dopo il quale si è ucciso l'animale	Numero delle colonie ottenute dai diversi organi		*Osservazioni*
Specie	Num.	Età e stato					
Cavie	4	*Gravide* (in principio di gravidanza)	*Carbonchio* (cultura in agar di tre giorni)	3 giorni	gangli	0	
					sangue	0	
					milza	0	
					rene	0	
Id.	4	*Gravide* (in avanzato periodo di gravidanza)	Id.	48 ore	gangli	0	Col carbonchio hanno dato culture negative anche i gangli delle cavie, che si trovavano nei primissimi stadii della gravidanza.
					sangue	0	
					milza	0	
					rene	0	
Id.	4	Puerpere	Id.	Id.	gangli	0	Le cavie puerpere venivano inoculate circa 6-8 ore dopo il parto.
					sangue	0	
					milza	0	
					rene	0	

Dalle esperienze esposte risulta che i bacilli del carbonchio non si riscontrano mai nei gangli delle cavie gravide, anche nei primissimi periodi di gravidanza, ed uguale reperto negativo dànno i gangli delle cavie puerpere.

Il b. prodigioso, al contrario, sebbene in molto minor numero che nelle cavie non gravide, come può vedersi nelle tabelle II e III, pure arriva sino ai gangli, però nei periodi molto avanzati della gravidanza non vi si rinviene più.

Questi risultati possono significare: sia che la mucosa vaginale delle gravide si oppone più che la mucosa normale alla penetrazione dei microrganismi; sia anche che l'azione meccanica e battericida del secreto vaginale sia molto più accentuata nel periodo di gravidanza e durante il puerperio. Essi dimostrano inoltre, che la permeabilità della mucosa, si appalesa di grado diverso secondo i differenti batterii.

***

Ho voluto anche, in questo lavoro, studiare come si comporti la mucosa vaginale, trovandosi per più volte, ed a breve intervallo di tempo, in presenza di batteri patogeni.

A questo scopo ho spalmato nella vagina di diciotto cavie, per cinque giorni consecutivi, una volta ogni ventiquattro ore, culture virulente di carbonchio.

Ho ucciso gli animali dopo sei giorni, ed ho fatto culture isolanti, come al solito, dai gangli, dal sangue, dalla milza e dal rene.

In questo gruppo di esperienze, quantunque tutte le cavie su cui ho esperimentato, abbiano subìto lo stesso trattamento, pure non hanno tutte reagito in maniera uniforme.

Troviamo infatti che su diciotto cavie inoculate, in quindici si è avuto uno sviluppo piuttosto scarso di bacilli (da tre a dieci colonie) solamente dai gangli linfatici, mentre nelle altre tre si è potuto costatare una infezione carbonchiosa diffusa, essendosi trovato un grandissimo numero di bacilli tanto nei gangli che nel sangue, nella milza e nel rene.

Da ciò si desumono due conseguenze. La prima è che, nel maggior numero dei casi, la mucosa vaginale, sotto l'influenza di un contatto reiterato col virus, reagisce, rendendosi sempre più impermeabile verso quest'ultimo; ed infatti se, dopo la prima, ci fossero state sempre nuove penetrazioni di germi, ogni volta che si infettava la vagina, si sarebbe dovuto trovare nei gangli linfatici una quantità di germi maggiore di quella che si riscontra in animali sottoposti

ad unica inoculazione. Si sarebbe dovuta trovare cioè, una quantità corrispondente presso a poco alla somma dei batteri penetrati successivamente in ogni inoculazione; poichè è noto che, dopo ventiquattro ore della loro presenza in vagina, i batteri si trovano già nei gangli linfatici vicini e vi si riscontrano ancora dopo sette-nove giorni.

La seconda conseguenza che si ricava dalle sueposte esperienze, è: che si hanno dei casi (tre su quindici) nei quali, in luogo di opporre questa salutare reazione, la mucosa mostrasi invece sempre più permeabile nelle successive inoculazioni.

Ed allora i batteri, penetrati in gran numero, superando la barriera linfatica, riescono ad invadere tutto l'organismo. È notevole però il fatto che le tre cavie con generalizzata infezione carbonchiosa, erano rimaste in vita per sei giorni, a capo dei quali vennero uccise; mentre la stessa cultura che era servita per le suddette esperienze, inoculata nel sottocutaneo, era capace di produrre la morte delle cavie in trentasei ore.

Questo fatto può solo spiegarsi, ammettendo una attenuazione dei bacilli del carbonchio, dovuta ai gangi linfatici, come qui appresso cercherò di chiarire.

***

I microrganismi che arrivano in vagina, appena attraversata la mucosa, si trovano negli spazi connettivali, che sono la sorgente dei linfatici, e sono quindi obbligati a prendere questa via che li conduce alle ghiandole linfatiche. Queste, funzionando da organi di arresto, li sequestrano nel loro interno; ed è perciò che noi li abbiamo rinvenuti solamente in questi organi. Ora, quale è la sorte che subiscono i microrganismi penetrati nei gangli, e perchè non arrecano essi alcuna infezione all'animale?

Quantunque il massimo sviluppo che ho avuto per il carbonchio dai gangli di una cavia, sia stato di quattordici colonie, pure è ovvio pensare che il numero dei bacilli penetrati sia stato di molto superiore, giacchè non tutti i gangli in cui potevano trovarsi bacilli vennero asportati e, inoltre, dai gangli presi in esame, si svilupparono solo quei bacilli che vennero in contatto col terreno di coltura.

Comunque sia però, è certo che anche pochi bacilli di carbonchio virulento, inoculati nel sottocutaneo di una cavia, bastano per ucciderla in breve tempo; e quindi, il fatto risultato dalle nostre esperienze, che le cavie possono albergare un discreto numero di tali bacilli

virulenti nei loro gangli, senza soccombere non solo, ma altresì senza mostrare alcun disturbo apprezzabile, è d'gno di speciale considerazione.

Questo fatto può solo essere spiegato ammettendo che i batteri arrivati nei gangli linfatici, dove, come ho dimostrato, si riscontrano fin dopo otto-nove giorni, vengano ivi in parte distrutti dai leucociti che si accumulano nei gangli nei momenti di reazione (Labbè (1), e in parte — quelli che resistono più a lungo — attenuati nella loro virulenza. Alcuni di questi ultimi poi, e non di rado, è possibile che passino nel sangue dove vengono distrutti o eliminati per altre vie.

Nel corso delle mie esperienze, due volte ho avuto sviluppo di carbonchio, da culture fatte dal rene di cavie, a cui era stata spalmata in vagina una cultura di carbonchio; le cavie erano state uccise una dopo sei e l'altra dopo nove giorni. Inoculate due altre cavie nel sottocutaneo con le culture ottenute dal rene delle prime, si ebbe, in un caso, la morte della cavia dopo sette giorni, nell'altro dopo otto giorni.

Se si pensa che la cultura originaria uccideva, per inoculazione sottocutanea, le cavie in trentasei ore mentre quella ottenuta dal rene ha prodotto la morte dopo 7-8 giorni, si deve concludere che, in quest'ultimo caso, i bacilli del carbonchio sieno arrivati al rene già attenuati.

Il Perez (2), del resto, nella seconda parte del suo lavoro ha dimostrato, con numerose esperienze, come quest'influenza attenuatrice della virulenza, da parte dei gangli linfatici si eserciti in modo costante e quasi generale, sui batteri patogeni che si soffermano per qualche tempo nel parenchima gangliare; ed ha visto inoltre che la attenuazione si ottiene più facilmente quando i bacilli sono già scomparsi dal sangue.

Per il carbonchio infatti, non potè ottenere colture attenuate dai gangli se non quando gli riuscì di limitare l'infezione carbonchiosa alle sole vie linfatiche.

Questo fatto si comprende facilmente, giacchè sino a quando i batteri esistono nel sangue, nelle culture che si fanno dai gangli, oltre allo sviluppo dei batteri che si trovano nella sostanza glandu-

(1) *Étude du ganglion lymphatique, dans les infections aigües* — Paris, 1898, Pag. 138.

(2) *I gangli linfatici nelle infezioni.* Ann d'Igiene sperimentale, volume VIII, 1898.

lare, e quindi attenuati, si ha pure lo sviluppo di quelli non attenuati, che si trovano nel sangue dei capillari di nutrizione dei gangli stessi.

Orbene, siccome i microrganismi che penetrano per la mucosa vaginale, prendono tutti la via linfatica, così quando essi arrivano al torrente sanguigno vi giungono, già più o meno attenuati dopo il loro passaggio e la loro permanenza nel tessuto gangliare linfatico.

***

Un altro fatto che nelle mie esperienze merita di essere notato, è, che spalmando nella vagina di cavie normali, invece della cultura carbonchiosa, o pappa di milza o sangue di animali morti di carbonchio, si ha la morte delle cavie dopo tre o quattro giorni. Ho ripetuto le esperienze dieci volte su cavie normali, tre volte su cavie gravide ad un periodo piuttosto avanzato della gravidanza; orbene, tutte le cavie non gravide sono morte dopo tre-quattro giorni; soltanto le gravide sono rimaste in vita.

Questo risultato, mentre conferma la maggiore refrattarietà della mucosa vaginale nel periodo della gravidanza contro i germi patogeni, dimostra che la mucosa stessa, in condizioni normali, diventa sicuramente permeabile al virus carbonchioso, quando questo vi è portato a contatto, insieme col sangue o con la pappa di milza di animali morti di carbonchio.

Quale la spiegazione del fatto?

Si potrebbero in proposito fare diverse ipotesi. Vi ha innanzi tutto la considerazione che, col materiale infettivo preso direttamente dall'animale, si inocula il *virus* sotto la forma quasi esclusiva di bacilli, mentre colle culture si inoculano bacilli e spore; e ciò potrebbe avere influenza sull'esito della inoculazione stessa, supponendo diversità di attitudine nei bacilli e nelle spore ad attraversare la mucosa.

La seconda ipotesi è, che le materie del sangue o della milza, eventualmente restate in vagina, putrefacendosi, potrebbero alterare la mucosa e favorire quindi la penetrazione dei germi.

Terza ipotesi: la possibilità che il sangue e la milza delle cavie carbonchiose, contenessero speciali tossine elaborate dal b. del carbonchio, capaci di alterare la mucosa e determinare l'infezione.

Ho studiato la prima ipotesi, servendomi di una cultura di carbonchio, formata in massima parte di soli bacilli, che ho ottenuto dal brodo, facendovi sviluppare il *virus* per 12 ore a 37° e soltanto negli strati profondi del liquido.

Tale cultura, che al microscopio mostrava quasi esclusivamente forme bacillari, inoculata nel sottocutaneo, uccideva le cavie in trentasei ore; inoculata invece in vagina, come nelle precedenti esperienze, non ha prodotto alcun effetto.

La prima ipotesi si deve dunque scartare.

Per chiarire la seconda ipotesi, mi son servito della stessa cultura di soli bacilli, mescolandola in alcune esperienze con pappa di milza, in altre con sangue di cavia sana.

Però tutte le esperienze (in numero di otto) furono negative, le cavie rimasero in vita.

Con ciò rimaneva escluso il sospetto che l'infezione avvenuta, nel caso dell'inoculazione di sangue o milza carbonchiosa, potesse riconoscere, come fattore predisponente per la mucosa, la putrefazione in vagina, di prodotti residuali del sangue e della milza.

Ecluse queste due ipotesi, non resterebbe che ammettere, che la infezione sia stata causata per effetto di alterazioni arrecate alla mucosa dai prodotti tossici contenuti nel sangue e nella milza delle cavie carbonchiose, alterazioni, che avrebbero resa possibile la penetrazione dei bacilli attraverso la mucosa stessa, probabilmente, in modo tanto rapido ed in numero così forte, da non potere essere più sufficiente la difesa gangliare.

Di qual natura però sieno queste alterazioni, e quali le sostanze capaci di determinarle, è difficile stabilire, tenuto conto che finora nessuna speciale tossina è stato possibile di rintracciare nelle colture di carbonchio; le esperienze da me fatte finora, nulla ancora di concreto mi permettono di affermare in proposito.

***

Da quanto abbiamo esposto si possono trarre molte conseguenze, che interessano la clinica, ma di queste ci limitiamo qui ad accennarne una, tra le più importanti. Il vedere come nei gangli linfatici della pelvi possono albergare batteri patogeni virulenti, (quantunque in via di attenuazione) provenienti dalla vagina, ci fa pensare alla possibilità dello sviluppo di qualche infezione, qualora si determini, per una causa accidentale, la fuoruscita di essi dai gangli che li racchiudono. Così, in seguito alla estirpazione di tumori con valide aderenze al connettivo pelvico, non è raro che si verifichino dei casi d'infezione, qualche tempo dopo dell'operazione, anche quando sia stata osservata la più accurata antisepsi; data la possibilità che dei

ganglî linfatici vengano lesi in simili casi, durante l'operazione, è presumibile che si debba a tale incidente operatorio riferire l'origine dell'infezione.

Se così fosse, facilmente si potrebbe rimediare a questo inconveniente. Basterebbe infatti, mediante la disinfezione del canale vaginale, seguita da opportuni tamponamenti evitare che per un certo tempo prima dell'operazione esistessero dei microrganismi in vagina; poichè d'altra parte è stato dimostrato, che quelli che già fossero in precedenza arrivati nei ganglî, sarebbero da questi o eliminati o attenuati o distrutti.

Conclusioni.

1° In condizioni normali della vagina, le culture di pneumococco, di carbonchio, di prodigioso, di stafilococco aureo, di tifo e di difterite, venendo in contatto colla mucosa vaginale sana, non producono infezioni. Solo il bacillo della difterite produce la morte delle cavie neonate sino a cinque giorni di età.

2° Nelle condizioni suddette, la mucosa vaginale si lascia attraversare da una certa quantità di batterî, i quali prendono la via linfatica, e vengono trattenuti ed attenuati, e dopo un certo tempo distrutti, nell'interno dei gangli linfatici.

3° Lo stato di gravidanza e puerperio rendono più difficile la penetrazione di alcuni batterî, impossibile la penetrazione di altri.

4° La mucosa vaginale trovandosi per parecchie volte di seguito in presenza di una grande quantità di microrganismi, nel maggior numero dei casi reagisce, rendendo più difficile la loro penetrazione; essa rimane però vinta alcune volte, nelle quali conseguentemente si determina l'infezione generale.

5° Sotto l'influenza di speciali sostanze accompagnanti il bacillo del carbonchio (sangue ed organi di animali morti di carbonchio) la difesa vaginale e gangliare rimangono soppresse, e gli animali inoculati in vagina muoiono di infezione carbonchiosa generalizzata.

Istituto d'Igiene della R. Università di Palermo

Le biancherie e gli abiti studiati dal punto di vista del loro contenuto batterico e della loro attitudine come mezzi di conservazione e propagazione dei germi patogeni.

Ricerche sperimentali dei dott. **D. VIOLA** e **G. MORELLO.**

Dopo che, per le ricerche di Peclet, Forbers, Krieger. Hammond, Coulier, Schumeister, Geigel, Schuster, Rubner, Rumpel, Nocht e altri molti, si sono stabilite le proprietà calorifiche dei vestiti e delle materie vestimentarie, e per quelle di Pettenkofer, Vallin, Hiller, Linzoth, Rubner, Schlesinger e altri il modo di comportarsi di essi in presenza d'acqua e in presenza d'aria, era interessante chiedersi quale influenza esercitano tali condizioni sui germi contenuti nelle vestimenta, quale parte queste prendono nella propagazione delle infezioni, quanto tempo dura il pericolo di propagazione del contagio con una stoffa infetta.

La quistione, invero importante, non è stata trattata in modo esauriente dai vari autori che di essa si sono occupati: non si riletteratura, di- nella' scontrano fatti, che poche ricerche le quali la sfiorano o la trattano da speciali punti di vista.

Una della prime esperienze in proposito appartiene a Richard. Questi, in una sala d'ospedale, durante la visita del mattino pensò di aspirare coll'aeroscopio di Hesse attraverso un primo tubo venti litri d'aria nello spazio di quaranta minuti; poi, dopo aver fatto alzare tutti i malati e rifare i loro letti, aspirava attraverso un secondo tubo cinque litri d'aria in dieci minuti. Dopo sette giorni si svilupparono sulla gelatina del primo tubo 52 colonie di batteri, mentre nel secondo già al quarto giorno si contavano 360 colonie.

Sormani imbrattò della tela da ambedue le facce a mezzo di escreato tubercolare e praticò delle inoculazioni nelle cavie dopo un mese dallo inqui-

namento della tela, dopo due mesi, tre, quattro e così via di seguito di mese in mese. Egli vide che gli escreati sulle biancherie non perdevano la loro virulenza che dopo sei mesi e suppose che similmente dovesse avvenire sulle altre stoffe.

Hobein ha visto che la capacità in germi delle biancherie è in rapporto con le proprietà fisiche dei tessuti e che la lana dimostra rispetto alla tela e al cotone una maggiore recettività per i microrganismi. D'altra parte Nikolsky dimostrò che la porosità, la rugosità, l'ineguaglianza sono tutte condizioni che favoriscono l'inquinamento della stoffa per microbi, e che il tessuto spesso, poroso, attirando meglio l'umidità, presenta delle condizioni più favorevoli per un prolungato soggiorno di essi.

Gunther ha ottenuto nell'ovatta grigia che si usa in certe fabbriche per la preparazione di materie vestimentarie 1200-1400 colonie di batteri in un grammo di materia bruta, e prima della preparazione 13-20000 colonie. Dal fatto che gli operai addetti a questa industria non raramente presentano casi di malattie o anche di morti per infezione deduce che le manipolazioni occorrenti nelle fabbriche non sono capaci di uccidere i germi.

Seitz trovò un notevole contenuto in batteri nelle vestimenta e notò alcune volte fra essi la presenza di cocchi piogeni. Egli studiò ancora il comportamento della virulenza di alcuni batteri patogeni quando essi si trovino nelle stoffe. Per il tifo vide che sulle stoffe di lana era già morto dopo 21 giorni, su quelle di cotone dopo 26; lo streptococco dell'eresipela visse 18 ore sia sul cotone che sulla lana; lo stafilococco piogene albo sul velo sterilizzato 19 giorni; il vibrione del colera sul cotone e sulla lana circa 24 ore; il bacillo del carbonchio sul cotone dopo un anno era ancora virulento. Da alcune esperienze poi fatte col bacillo tubercolare, inoculando in animali striscie di cotone che erano state a contatto col petto di una donna tubercolosa, ebbe sempre risultati negativi.

Nicati e Rietsch videro che il vibrione colerigeno con cui inquinarono dei piccoli pezzi di tela, che conservavano in tubi di vetro dopo averli ripiegati su se stessi, può vivere sulla tela e alla temperatura ambiente sino a dodici giorni.

Bordoni-Uffreduzzi trovò che lo pneumococco contenuto negli sputi conservava la propria virulenza sulle striscie di tela sino a 25 giorni in un caso e sino a 60 giorni in un altro caso.

Reyes, esperimentando sul bacillo difterico, vide che questo sottoposto a un essiccamento qual è quello che si verifica nelle condizioni ordinarie in presenza dell'aria, dura in vita per alcuni giorni, è quando contenuto nella o nella seta. Quando poi i bac. difterici vengono preservati dal disseccatela mento mantenendoli in ambienti umidi, resistono per circa il doppio del tempo che nel caso precedente.

Golowkoff ha cercato di determinare per quanto tempo il bac. difterico conserva la sua vitalità sui vestiti dei medici militari. I risultati delle sue ricerche sono i seguenti: trasportato sulla tela, e se è al riparo dalla luce, il bac. di Löffler conserva la sua vitalità assai a lungo e non perisce che entro i 16 e i 21 giorni; sul velluto verde esso muore a capo di 30 giorni: sul drappo grigio la vitalità persistette per i 26 giorni in cui durò l'osservazione. Se il tessuto contenente i batteri è sottomesso all'azione della luce diffusa il bacillo persiste sulla tela o sul drappo per 20 giorni. Sul *lasting* il bacillo muore nel corso di una giornata.

Solovieff ha fatto un esame batteriologico delle polveri che si trovano sui vestiti, sugli appendipanni e sui pavimenti di tre ospedali di Pietroburgo. Queste ricerche dimostrarono che le polveri dei vestiari d'ospedale contengono un grandissimo numero di microrganismi, tra cui si trovano spesso dei patogeni. La presenza di patogeni è stata trovata nel 41 per cento dei campioni; per conseguenza questi vestiari possono essere sorgenti d'infezione.

Spolverini, studiando sulla durata della virulenza dello pneumococco contenuto negli sputi, vide che sulla tela, esposta alla luce e in un ambiente asciutto, la virulenza durava 60 giorni, e alla luce e in ambiente umido sino a 90 giorni; nella tela poi conservata all'oscuro e in ambiente asciutto, la virulenza durava sino ad 80 giorni, all'oscuro, e in ambiente umido più di 90 giorni.

Recentemente Abba e Barelli imbrattarono di sputi tubercolari delle pezzuole di tela e le lasciarono avvolte su sè stesse, esposte alla luce e sottoposte alla temperatura di 17°-27° C. e all'umidità relativa di 55°-65° volendosi così simulare le condizioni delle biancherie usate che nelle case private si tengono ammonticchiate in attesa della lavandaia: le inoculazioni nelle cavie dimostrarono che anche dopo 26 giorni possono trovarsi vivi e virulenti i bac. della tubercolosi in siffatte condizioni.

Dalla rapida rassegna fatta risulta quindi come la quistione non sia stata esaminata in tutti i suoi lati, nè sia stata oggetto di ricerche sistematiche, salvo quelle del Seitz, il quale però nello studio del comportamento di alcuni batteri patogeni sulle stoffe da vestito non ha realizzata nessuna delle condizioni cui esse vanno soggette nella pratica ordinaria.

Pertanto, dietro consiglio del nostro Maestro prof. Manfredi, cui esprimiamo la nostra gratitudine per la benevola e costante guida con cui ci ha accompagnati in tutte le nostre esperienze, abbiamo intrapreso delle ricerche in proposito.

La quistione, a noi pare, si può considerarla da un triplice punto di vista prendendo in esame: 1° il contenuto batterico di vestimenta usate in atto da persone di diversa condizione sociale; 2° l'eventuale progressivo aumento del quantitativo in germi delle biancherie a seconda del numero di giorni in cui sono tenute a contatto col corpo; 3° la resistenza dei patogeni, per quanto concerne la loro vitalità e virulenza, qualora si trovino entro abiti o biancherie a contatto, mediato o immediato, col corpo, o conservati in armadio.

Tecnica.

Per la ricerca del quantitativo in germi di indumenti in atto usati, raccoglievamo da diverse persone di differente condizione sociale (agiati e popolani), abiti e biancherie, e dallo intero oggetto, volta per volta, si tagliava un largo pezzo, che, previamente misurato, veniva immerso in una bottiglia d'Erlenmeyer contenente cmc. 500 d'acqua sterile, dopo essere stato tagliuzzato minutamente entro il collo dal matraccio stesso e sotto una campana: quivi si teneva per 1 ora agitando spesso ed a lungo. Un centimetro

cubico di questa prima sospensione batterica veniva quindi portato in altri 250 cmc. d'acqua sterile, e da questa diluizione si facevano le piastre con agar entro capsule di Petri. Altre piastre venivano allestite con la medesima sospensione batterica, dopo averla tenuta a bagnomaria ad 80° C. per un'ora, allo scopo di indagare in quali proporzioni, rispetto al numero totale, fosse nell'oggetto in esperimento il numero delle spore.

Il numero delle colonie sviluppatesi sulle piastre veniva, col calcolo. riferito ad 1 cmq. della stoffa impiegata.

Questi stessi campioni studiammo anche dal lato qualitativo, limitandoci a determinare la specie batterica per quelle forme che più si imponevano sia per la frequenza sia per altro fatto, e praticando degli esperimenti di infezione negli animali, onde riconoscere la presenza eventuale di specie batteriche patogene.

Per quanto poi si riferisce alla ricerca del quantitativo in germi delle biancherie, a seconda del numero di giorni in cui sono tenute a contatto col corpo, era necessario che noi partissimo da biancherie sterili. All'uopo, sterilizzammo all'autoclave quattro camicie, quattro mutande, quattro paia di calze, precedentemente lavate, di cui una metà di lana, l'altra di cotone: ci assicurammo dell'assenza di microrganismi preparando delle piastre, prima di passare all'esperienza.

Uno di noi e uno degli inservienti dell'Istituto indossò le biancherie di cotone, l'altro e un secondo inserviente indossarono quelle di lana.

Ogni giorno, e per sei giorni continui, si prelevarono dei brandelli dai vari indumenti, e si sceglievano diversi punti da esaminare, tenendo presente la diversa distribuzione della flora batterica sulla superficie del corpo umano. Con i singoli pezzi ottenuti si preparavano le sospensioni batteriche nel modo descritto ed ugualmente se ne allestivano piastre, così per la ricerca delle forme vegetative che delle sporali.

Nello studio infine del comportamento dei batteri patogeni contenuti negli abiti e biancherie a contatto col corpo, dovevamo tener conto principalmente della temperatura di questo e dello stato relativo di umidità che si trova alla sua superficie, indotto dalla traspirazione cutanea. Abbiamo creduto di ovviare a tali difficoltà, avvalendoci del seguente dispositivo consigliatoci dal prof. Manfredi.

Un comune termostato d'Arsonval venne rivestito con diversi fogli di carta da filtro ordinaria e spessa, e su questa si dispose tutt'intorno uno strato leggero di ovatta, fissando ogni cosa mediante fili di cotone. Il termostato venne situato dentro un grande armadio fornito di sportelli di cristallo che si tenevano socchiusi; con ciò provvedevamo al doppio intento di non impedire la penetrazione della luce e dell'aria e di evitare che correnti d'aria potessero togliere agli indumenti in esperienza parte dei germi contenuti o depositarvene dei nuovi.

Abbiamo inoltre attaccato al tetto dell'armadio un recipiente della capacità di circa due litri, che veniva a trovarsi sospeso al disopra del termostato. A questo recipiente erano innestate inferiormente quattro cannule di caoutchouc, a cui facevano seguito dei tubicini di vetro calibrati, in modo che per essi l'acqua contenuta nel recipiente venisse fuori a gocce lente e rade. I tubicini vennero per l'estremità loro introdotti nello spessore della carta da filtro, che umettavano così in modo lento e uniforme.

Il termostato venne mantenuto a una temperatura di 34°-37, C.: con ciò

si aveva la temperatura media della superficie del corpo umano, e di più, per effetto di questo calore, l'acqua di cui man mano si imbeveva la carta da filtro evaporava lentamente, e per tal guisa i vapori umidi sviluppatisi venivano comunicati allo strato di ovatta sul quale si dovevano collocare i vari indumenti (abiti e biancherie).

Avendo così preparato l'apparecchio, facevamo diversi innesti della specie batterica su cui volevamo sperimentare, e di cui precedentemente si era saggiata ed esaltata la virulenza, su agar solidificato in capsule di Petri. Da una delle piastre prelevavamo a mezzo d· ansa di platino la sostanza della coltura e facevamo con questa una emulsione in 200 cmc. di acqua distillata e sterilizzata, nella quale si emergevano i vari indumenti, lasciandoveli sino a che non si fossero completamente impregnati di essa, e fattili asciugare convenientemente, li collocavamo sull'apparecchio, mettendo la biancheria di lana e di cotone a contatto immediato coll'ovatta e gli abiti al di sopra di essa. Venivamo per tal modo a realizzare approssimativamente le condizioni di temperatura e di umidità in cui quegli oggetti si trovano sul corpo dell'uomo.

Altri abiti di cotone e di lana, infettati nella stessa guisa, conservammo, inoltre, in un armadio e alla temperatura ambiente, allo scopo di vedere la sorte dei germi patogeni in queste speciali condizioni.

I microrganismi messi alla prova sono stati: bacillo della tubercolosi, bac. tifico, staf. piog. aureo, bact. coli, bac. piocianeo e diplococco della pneumonite.

Stabilite così le esperienze, abbiamo fatto giornalmente delle piastre in agar, prelevando, da ogni singolo oggetto infettato con la specie batterica in esperimento, un quadrello di stoffa sempre di egual misura — cmq. otto. I vari quadrelli venivano immersi ognuno in un matraccio contenente 250 cmc. d'acqua sterile, e vi erano tenuti per 1 ora agitando continuamente. Colla sospensione batterica ottenuta preparavamo, col solito metodo, le piastre, che venivano portate in termostato a 37° C. e vi erano tenute da 3-9 giorni.

Per ciò che riguarda la virulenza abbiamo, all'inizio dell'esperienza, prelevato dai vari oggetti inquinati due quadrelli di cmq. sei per ognuno, e con essi inoculato rispettivamente due cavie nel sottocute: il modo come avrebbe reagito l'animale a queste prime inoculazioni ci forniva un termine di paragone con gli effetti di quelle successive, le quali venivano praticate a determinati intervalli di tempo per ogni singola specie batterica.

Abbiamo anche studiato il comportamento di alcuni batteri patogeni — bact. coli, staf. piog., bac. difterico — contenuti nella vestimenta di seta, e in ultimo, tenendo conto del fatto che l'uomo suole sbarazzarsi la sera degli abiti indossati durante il giorno, di guisa che questi sottostanno alternativamente alle condizioni offerte dal corpo e a quelle date dall'ambiente, abbiano ricercato che cosa avviene in tali condizioni, esperimentando col bac. tifico.

Serie I.

Esperienze riguardanti il contenuto in germi di biancherie ed abiti usati e di varia provenienza.

Riportiamo nella tabella seguente i risultati ottenuti riguardo al quantitativo in germi nei saggi praticati su 47 diversi indumenti di uso comune raccolti da svariate persone.

TABELLA I.

Num. d'ordine	AGIATI			
	Sesso	Oggetti	Microrganismi in un cmq.	
			Forme vegetative	Forme sporali
1	Donne	Veletta	834	81
2		Merletto da sottana	17,581	2,505
3		Guanto di seta – dito	8,222	2,141
4		Id. – dorso	10,606	800
5		Guanto di pelle – dito	96,000	6,103
6		Id. – dorso	31,500	5,060
7		Corset	32,500	1,250
8		Nastro di seta	2,960	230
9		Camicetta di battista	17,500	1,260
10		Giarrettiera	3,101	903
11		Maglia di lana	14,800	2,000
12	Uomini	Sottana da prete	38,220	3,100
13		Bretelle	2,301	201
14		Cachenez di seta	3,250	457
15		Cravatta	42,000	3,201
16		Portabiglietti di raso	11,251	3,75[illegible]
17		Pantaloni	81,000	11,201
18		Panciotto	17,500	5,000
19		Fodera di cappello	15,066	833
20		Camicia di cotone	3,694	207
21		Camicia di lana	11,927	1,832
22		Calza di cotone	6,309	800
23		Mutande di cotone	19,111	1,213
24		Mutande di lana	28,966	3,10[illegible]
25		Fazzoletto	23,109	1,21[illegible]

POPOLANI			
Sesso	Oggetti	Microrganismi in un cmq	
		Forme vegetative	Forme sporali
Donne	Gonnella	62,700	7,300
	Scialle	12,916	1,916
	Altro scialle	93,911	11,160
	Vesta	186,503	13,001
	Fazzoletto di seta	9,335	1,210
	Corset	51,900	3,604
	Sciarpa	39,000	4,901
	Camicia di cotone	85,666	2,666
	Camicia di lana	91,210	11,306
Uomini	Pantaloni	465,001	9,506
	Giubba	169,833	18,500
	Id.	114,912	3,796
	Cravatta	222,720	20,700
	Altra cravatta	237,900	36,911
	Fodera di berretto	129,330	40,380
	Blouse da lavoro	188,225	58,125
	Camicia di lana	106,000	11,200
	Mutande di lana	38,000	7,104
	Camicia di cotone	60,101	3,909
	Mutande di cotone	29,607	11,106
	Calze di cotone	19,216	2,107
	Berretto	518,756	53,206

Esaminando la tabella precedente si rileva che tutti gli oggetti messi alla prova contengono, in maggiore o minor numero, dei microrganismi: questi, nelle nostre ricerche, variarono da un minimo di 915 a un un massimo di 571,962 per centimetro quadrato di stoffa.

Queste cifre non hanno però che un valore affatto relativo, dovendosi supporre che, in condizioni speciali, gli oggetti in parola possono caricarsi di un numero anche maggiore di germi. Dall'altra parte bisogna pur considerare che non tutti i microrganismi contenuti entro la trama stessa del tessuto, ci si rivelarono nelle colture, poichè una parte di essi, per quanto minima, rimase certamente annidata nello spessore della stoffa.

Un altro interessante rilievo è poi quello che riguarda il contenuto in germi degli abiti e biancherie a seconda che appartengano a persone di condizione agiata o a popolani, inquantochè appare come negli abiti e biancherie di questi ultimi, naturalmente in dipendenza delle deficienti condizioni igieniche e della scarsa nettezza personale, si trova, in generale, un contenuto relativamente più elevato di microrganismi.

Di più, parrebbe da queste preliminari ricerche che gli abiti e le biancherie di lana siano capaci di contenere un numero di microrganismi assai più elevato rispetto agli stessi indumenti di cotone.

Stabilita da ciò la possibilità che le vestimenta dell'uomo possano divenire facilmente veicolo o ricettacolo di germi, è ovvio chiedersi quali forme più frequentemente si riscontrano; se tra queste possono trovarsi germi patogeni, e quali; in breve se possono tali indumenti costituire un materiale infettivo e in quale misura.

Dovremmo a questo punto descrivere partitamente le specie di microrganismi rinvenute sugli oggetti in esame; per brevità però non ci occuperemo di esse singolarmente.

Prevalgono negli abiti e nelle biancherie gli schizomiceti sulle muffe; tra i primi abbiamo in prevalenza notato varie sorta di protei, diverse forme cromogene, ad esempio alcune specie di sarcine — lutea, flava, aurantiaca, — il b. prodigioso, qualche volta il b. fluorescens, il bac. mesentericus fuscus, e altri.

In quanto ai patogeni, dei venti campioni che sottoponemmo ad esperimento di infezione, quattordici si dimostrarono sforniti di proprietà infettanti, mentre sei diedero luogo a varie infezioni nelle cavie.

Tra i patogeni abbiamo trovato:

1, *Cocchi piogeni:* 3 volte. In due casi abbiamo isolato lo stafilo-

cocco piogene aureo, in un caso lo streptococco. In questi casi si constatò negli animali la produzione di un focolaio suppurativo nel punto di inoculazione.

2. *Bacilli piogeni:* 2 volte. In un caso abbiamo isolato il piocianeo: l'animale inoculato per la via peritoneale morì di peritonite settica. Un'altra volta poi riscontrammo il bact. coli. La cavia inoculata nel sottocutaneo presentò uno ascesso che volse a guarigione, l'altra inoculata nel peritoneo morì per infezione generale da colibacillo.

3. *Bacillo tubercolare:* 1 volta. La cavia inoculata nel sottocutaneo della parte interna della coscia presenta nei primi tempi al punto di inoculazione una piccola intumescenza che trasformasi in ulcerazione tubercolare; l'animale in seguito dimagra considerevolmente, i gangli linfatici dell' inguine si ingrossano, e muore marantica dopo 3 mesi circa. All'autopsia si trova la milza ingrossata piena di granulazioni, e tubercoli miliari sulle sierose, nel fegato, nei reni, nel polmone. L'esame microscopico è positivo. Anche quella inoculata nel peritoneo morì in capo a 2 mesi per tubercolosi generalizzata.

Serie II.

Esperienze riguardanti il quantitativo in germi delle biancherie di lana e di cotone a seconda del numero di giorni in cui sono tenute sul corpo.

Tralasciamo qui di riferire in tabelle i risulti ottenuti in questa seconda serie di esperienze; tali risultati, riassumiamo, per brevità, come segue.

Risulta anzitutto confermata per queste esperienze la capacità delle vestimenta da caricarsi di batteri.

Esse dicono inoltre che il contenuto in germi delle biancherie aumenta progressivamente di giorno in giorno sino al termine dell'esperienza. Ciò avviene in modo diverso a seconda che trattisi di biancheria di lana o di cotone, come ancora di oggetti usati da persone di condizione agiata o da popolani, e finalmente a seconda della regione del corpo umano con cui le singole parti della biancheria vengono a contatto.

Le biancherie di lana, difatti, mostrano, in generale, una maggiore capacità in germi rispetto a quelle di cotone; inoltre manifestasi evidentissimo un contenuto batterico di gran lunga superiore nelle

biancherie usate da popolani rispetto a quelle usate da persona di agiata condizione, e ciò così nella lana come nel cotone.

In ultimo, per ciò che concerne il quantitativo batterico delle varie biancherie, a seconda delle diverse regioni del corpo a cui le varie parti di esse corrispondono, è degno di nota il fatto che in quelle porzioni delle biancherie (polso, colletto per la camicia; orlo inferiore della gamba per le mutande) che corrispondono a parti del corpo più facilmente esposte agli inquinamenti esterni, ed in quelle che corrispondono a regioni in cui abbonda la secrezione del sudore o del sebo (inguine, ascella, punta dei piedi) trovasi un contenuto batterico di molto superiore a quello delle altre parti.

Di più rilevasi che, per le forme sporali, le quali sono sempre in numero elevato rispetto alle vegetative, vi è un periodo dell'esperienza in cui, in generale, esse raggiungono la cifra di queste ultime, e non raramente la superano. A questo temporaneo aumento delle forme sporali sussegue ordinariamente, nel giorno appresso, un rilevante e rapido accrescimento nel quantitativo delle forme vegetative.

Serie III.

Esperienze riguardanti la durata della vitalità e virulenza dei batteri patogeni contenuti entro le vestimenta.

Senza dilungarci a riferire partitamente i risultati delle esperienze fatte per ciascun microrganismo riassumiamo nella tabella seguente i risultati avuti sulla durata della vitalità dei vari microrganismi messi alla prova.

TABELLA II.

Tabella riassuntiva sulla durata della vitalità dei bacilli patogeni.

SPECIE BATTERICA	Biancheria sul corpo		Abiti sul corpo			Abiti in armadio			Alternativamente sul corpo e in armadio			
									Biancheria		Abiti	
	lana	cotone	lana	cotone	seta	lana	cotone	seta	lana	cotone	lana	cotone
Bacillo tubercolare	*3 mesi	*3 mesi	*3 mesi	*3 mesi	—	*3 mesi	*3 mesi	—	—	—	—	—
Diplococco di Fränkel	3 giorni	2 giorni	3 giorni	2 giorni	—	3 giorni	3 giorni	—	—	—	—	—
Stafilococco piogeno	12 »	10 »	10 »	7 »	12 giorni	*22 »	*20 »	17 giorni	—	—	—	—
Bacillo di Löeffler	23 »	20 »	20 »	17 »	22 »	*29 »	*29 »	*26 »	—	—	—	—
Bacterium coli	16 »	14 »	15 »	12 »	16 »	*27 »	26 »	26 »	—	—	—	—
Bacillo piocianeo	8 »	6 »	6 »	3 »	—	13 »	8 »	—	—	—	—	—
Bacillo tifico	25 »	22 »	24 »	19 »	—	*34 »	*34 »	—	28 giorni	26 giorni	32 giorni	27 giorni

* I numeri segnati con asterisco rappresentano le esperienze rimaste in corso.

Dall'esame di tali risultati rilevasi anzitutto che la resistenza dei batteri patogeni comportasi differentemente a seconda della diversa specie batteriche a seconda delle varie vestimenta che li contengono e delle condizioni a cui gli indumenti stessi si trovano esposti.

Difatti, in generale, negli abiti e nella biancheria di lana i vari microrganismi conservano la loro vitalità un tempo maggiore che in quelli di cotone e di seta; inoltre i microrganismi contenuti negli abiti e biancheria di lana, cotone e seta, conservati in armadio vivono più a lungo di quelli contenuti nelle stesse vestimenta tenute sul corpo.

Quest'ultimo fatto potrebbe forse spiegarsi ammettendo che i batteri patogeni contenuti in abiti o biancherie esposte continuamente alle condizioni che offre il corpo umano o a quelle analoghe realizzate da noi coll'apparecchio adoperato nelle nostre esperienze, trovando, in tali condizioni, convenienti allo esplicarsi della loro attività e la temperatura e la relativa umidità, approfittino di tali momenti favorevoli, esplicando rapidamente ogni loro attività biologica, prima tra queste quella riproduttiva. Ciò però avviene a danno della loro conservazione ulteriore, in quanto che essi si trovano contenuti in un mezzo che ordinariamente poco si presta ai loro scambi nutritivi, sicchè venendo a mancare per tanto numero di organismi il sùbstrato nutritivo, e d'altra parte permanendo gli stimoli citati, questi ultimi che prima ne favorivano lo sviluppo e la vitalità, agiscono poi dannosamente, indebolendo i microrganismi, che così vengono più presto ad estinguersi. Qualora invece le vestimenta che contengono dei batteri sono conservate in armadio e vi sono tenute per un lungo periodo di tempo, i microrganismi trovano probabilmente in questo ambiente peculiari condizioni di vitalità latente.

Prima ora di riassumere i risultati relativi al comportamento della virulenza, occorre notare che costantemente abbiamo potuto constatare un graduale progressivo rallentamento nel potere riproduttivo delle singole forme che sopravvivevano. Questo indebolimento del potere riproduttivo era tale che mentre, in genere, allo inizio dell'esperienza le piastre mostravano lo sviluppo completo delle colonie già dopo 24 ore, nei saggi ulteriori occorreva attendere un tempo progressivamente maggiore di 3-5, e non raramente, in ispecie negli ultimi saggi, persino di 7 giorni.

Finalmente, in quanto alla durata della virulenza, risulta, che questa, in generale, sottostà a una diminuzione progressiva e che intanto i varî microrgarnismi non la perdono mai interamente. Questa

diminuzione progressiva del potere patogeno, che nelle nostre esperienze si è resa manifesta in tutte le specie batteriche messe alla prova, potrebbe essere in relazione sia con una attenuazione delle specie patogene, sia con la graduale diminuzione del numero individuale dei batteri, per cui nelle inoculazioni successive gli animali ricevevano quantità di *virus* sempre minori, e sia infine colla rallentata vitalità dei bacilli sopravviventi, per cui questi avevano bisogno di un tempo maggiore per svilupparsi entro l'organismo.

Da tutte le esperienze fatte sulla recettività degli abiti e delle biancherie per i microrganismi in genere, come ancora da quelle riguardanti il modo di comportarsi dei batteri patogeni sugli indumenti stessi, crediamo di poter venire alle seguenti

Conclusioni.

1° Gli abiti, le biancherie ed altri indumenti sono capaci di ricettare un numero relativamente grande di microrganismi. Questi, nelle nostre esperienze, variarono da un minimo di 915 ad un massimo di 571,962 per centimetro quadrato di stoffa.

2° Questo contenuto batterico è rappresentato in massima parte da comuni forme saprofitiche: possono tuttavia in esso riscontrarsi svariati germi patogeni.

3° Le biancherie che vengono a contatto col corpo per un vario numero di giorni si caricano di un numero progressivamente crescente di germi. È però da notarsi che a parità di tempo:

a) in generale le biancherie usate da popolani dimostrano un più alto contenuto batterico rispetto a quelle usate da persone agiate;

b) quelle di lana mostrano, in generale, una maggiore capacità in germi rispetto a quelle di cotone;

c) corrispondentemente alla diversa distribuzione della flora batterica sulla superficie del corpo umano, si ha un diverso quantitativo batterico sulle varie parti delle biancherie, in rapporto alle diverse regioni che esse coprono.

4° La lana, in generale, favorisce meglio che il cotone e la seta la vitalità dei batteri patogeni in essa contenuti.

5° Negli abiti e nelle biancherie sul corpo i batteri patogeni vivono un tempo minore che negli stessi oggetti conservati in un armadio.

9° I batteri patogeni contenuti entro le vestimenta di lana e di cotone sottoposti alternativamente alle condizioni offerte dal corpo

e a quelle dello ambiente conservano la loro vitalità alquanto più a lungo che quando subiscono la initerrotta azione delle condizioni offerte dal corpo.

7° In tutte le condizioni suddette la estinzione dei batteri patogeni avviene gradatamente e si manifesta sia con una riduzione progressiva del numero dei germi viventi, sia con un ritardo nel loro potere di sviluppo: in pari tempo si ha una attenuazione graduale e progressiva della loro virulenza.

8° È quindi da ritenere che le vestimenta siano un mezzo non trascurabile di diffusione degli agenti infettivi, potendosi in esse conservare vitali e virulenti, per un tempo abbastanza lungo, i batter patogeni in qualunque modo pervenutivi.

LAVORI CITATI.

PETTENKOFER. Zeitschr. f. Biologie, Bd. 1, 1865, pag. 180.

PECLET, FORBERS, KRIEGER, HAMMOND, COULIER, SCHUMEISTER. Rif. da VAQUEZ. Rev. d'hygiène, pag. 890, 1888.

LINROTH. Rev. d'hygiène, 1881.

GEIGEL. Arch. f. Hygiène, 1887.

NICATI e RIETSCH. Rev. d'hygiène, pag. 353, 1885.

RICHARD. Rev. d'hygiène, pag. 305, 1886.

SORMANI. Giorn. della R. Soc. It. d'igiene, 1886.

SCHUSTER. Arch. f. Hyg., 1888, p. 1.

RUBNER. Arch. f. Hygiene, 1897, pag. 142-269 e 1898, pag. 1.

RUMPEL. Arch. f. Hygiene, pag. 51, 1889.

NOCHT. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. V, 1888, pag. 73.

HILLER. Deutsche militär-ärztl. Zeitschr. XIV. Jahrg., 1885, pag. 309; XV. Jahrg., 1886, p. 315.

SCHLESINGER. Mikroscopische Unters,. der Gespinntfäsern. Zürich, 1873, Orell, Füssli e Co.

HOBEIN. Zeit. f. Hygiene, pag. 218, IX, 1890.

GUNTHER. Xte Internat. Med. Congress zu Berlin, 1890, Rev. d'hygiene, pag. 84, 1892.

SEITZ. Elfter Jahresbericht über die Fortschritte und Leistungen auf dem Gebiete der Hygiene. Jahrgang 1893.

BORDONI-UFFREDUZZI. Centralbl. f. Bakt., pag. 306, B. 10, 1891.

NIKOLSKY. Rev. d'hygiène, p. 1006, 1894.

REYES. Questi Annali. Vol. V, pag. 501, 1895.

GOLOWKOFF. Rev. d'hygiène, 1895.

SOLOVIEFF. Rev. d'hygiène, 1895.

SPOLVERINI. Questi Annali. Vol. IX, pag. 103, 1899.

ABBA e BARELLI. Riv. d'Ig. e sanità pubblica, 1901.

Istituto d'Igiene della Regia Università di Palermo

I caratteri del glutine nelle alterazioni naturali delle farine di frumento

pei dottori **A. INSINNA**, assistente e **D. VIOLA**, interno.

La farina, ricca di germi al pari di ogni altra derrata alimentare già quando è fresca (secondo Bernheim da un minimo di 3500 a un massimo di 20,000 per grammo), deve subire dei processi di fermentazione più o meno rapidi e intensi e di natura diversa, dipendentemente dalla flora microrganica e dalle condizioni di tempo e di luogo (temperatura ed umidità elevate) favorevoli o non all'attività e moltiplicazione batterica.

I varî componenti della farina debbono quasi tutti risentire gli effetti deleterî della vita dei protofiti, ma in grado e tempo diverso, secondo il carattere fisico-chimico di ciascuno e la varietà delle specie microbiche.

Intanto non si è ancora ricercato sistematicamente, non ostante l'importanza scientifica e pratica di ciò, *quali tra i varî elementi della farina si modificano in ogni caso di alterazione delle farine*, *quali tra essi risentono in modo sensibile sin dai primi momenti gli effetti della vita batterica*, *e sino a qual punto arrivano questi effetti nocivi prima che la farina si riveli organoletticamente alterata.*

Solo Scala per quanto è a nostra conoscenza, ha tentato nel 1896, un simile studio. Egli volle in varî tipi di farina di frumento e granturco, conservati in ambiente umido, esaminare le variazioni che si avverano coll'andare del tempo nella reazione e nelle sostanze minerali, azotate e grasse.

Secondo i suoi risultati: le sostanze azotate totali e quelle solubili presentano mutamenti ultranormali nei loro rapporti quantitativi solo quando la derrata è manifestamente alterata; il grado di aci-

dità è molto variabile e non si presta per il riconoscimento di un'alterazione iniziale della farina; il rapporto tra ceneri e grasso invece si modifica sensibilmente già sin dall'inizio di un'alterazione e va al disotto ben presto del limite minimo di 1 : 1,5, riscontrato nelle farine fresche di frumento. (Le Staz. sperim. agrarie, 1896, fasc. 1, pag. 25-40).

Ne consegue quindi che la determinazione delle ceneri e del grasso abbia un grande valore pratico per svelare le prime alterazioni delle farine. Devesi però osservare la facilità di possibili errori nell'esame di farine adulterate; e così nell'esame di una farina fresca contenente per es. 0. 90 gr. di grasso e 0. 45 gr. di ceneri, ed in cui per aggiunta di gr. 0. 5°/₀ di sostanze minerali, non sempre possibile a scoprirsi, il rapporto tra ceneri e grasso è diventato come 1 : 1, si crederà di avere sotto mano una farina alterata; e così nell'esame di una farina fermentata con rapporto tra ceneri e grasso di 1 : 1, in cui per aggiunta di uguale quantità di farina fresca dal rapporto tra ceneri e grasso di 1 : 2, si è stabilito un nuovo rapporto di 1 : 1. 5, si penserà di giudicare la farina come fresca.

Quindi la determinazione delle ceneri e del grasso consigliata dallo Scala, va incontro nella pratica a difficoltà non lievi. Lo Scala nel suo studio sperimentale non ha cercato di esaminare le eventuali e progressive modificazioni qualitative e quantitative del glutine.

Eppure questo, data l'origine bio-chimica delle alterazioni nelle farine e la predilezione dei batterî per le sostanze azotate, dovea meritare una giusta considerazione; da tempo invero nelle analisi delle farine, è stato di pratica corrente l'esame meno quantitativo che qualitativo del glutine.

In vista di ciò noi abbiamo riconosciuto utile di *seguire sin dall'inizio le variazioni del glutine nelle alterazioni naturali delle farine*, ricercando particolarmente quali esse siano, in quale momento comincino a rendersi manifeste e sino a qual punto arrivino, onde vedere qual valore esse potrebbero avere nel giudizio igienico di una farina, specialmente nel principio delle alterazioni. A complemento del lavoro si è creduto in pari tempo opportuno: *esaminare il contenuto batterico nei vari stadî di alterazione*, per giudicare se e quale rapporto esistesse tra questa e quello; *determinare inoltre il grado di acidità ed umidità.*

METODI DI RICERCA. — Di ciascun campione delle farine fresche e di prima qualità, adoperate nelle nostre esperienze, fu praticato subito un esame preliminare; i risultati doveano servire di base e di paragone per le successive analisi.

A favorire mercè il graduale inumidimento l'alterazione delle farine, queste si conservarono nelle comuni camere umide per batteriologia, alla cui parete superiore interna era applicato un foglio di carta bibula, che si umettava con acqua distillata 1-2 volte ogni mese; la farina in questo modo assorbiva lentamente una quantità sempre maggiore di acqua; di tanto in tanto si rimescolava la farina per rendere equabile l'umidità in tutta la massa; le camere umide per tutto il tempo delle esperienze si tennero ad una temp. di 20° C.

Le varie analisi furono fatte per ogni campione alla distanza di un mese l'una dall'altra, e per un tempo massimo di 4 mesi dal giorno della conservazione, considerando che negli usi ordinari la farina non si conserva per un tempo maggiore e che anzi dopo tale tempo, anche nell'inverno e in ambienti asciutti, raggiunge gradi elevati di alterazione.

Per *l'esame del contenuto batterico* si mescolavano 10 gr. di farina con 500 cmc. di acqua sterile e dopo accurata agitazione 1 cmc. di questo miscuglio si diluiva in altri 500 cmc. di acqua; da questa 2ª diluizione si prelevava il materiale per le colture isolanti in gelatina ed agar. Per calcolare il numero delle spore, una porzione del 2° miscuglio si esponeva per 1 ora in bagno-maria alla temp. di 80° C., e dopo raffreddamento si destinava per l'innesto delle piastre di isolamento. Le colonie delle piastre, mantenute a temp. di 18°-20° C., si numeravano dopo 5-7 giorni e col calcolo si riferivano a 1 grammo di farina.

Per *l'esame del glutine* si impastavano 50 gr. di farina mercè 1/3 del peso d'acqua; la pasta dopo 30 minuti era sottoposta alla nota pratica per l'estrazione completa del glutine, di cui si determinava subito il peso; 7 gr. di glutine erano poi prelevati per determinare il grado di estensibilità coll'aleurometro Boland, a temp. di 150° C.; il glutine residuale disteso su carta tarata in strato sottile si facea disseccare a blando calore; le quantità di glutine umido e secco riferite nelle tabelle sono riportate a 100 gr. di farina secca.

Per la *determinazione dell'umidità* si essiccavano, per 1 ora, in una stufa ad aria calda a temp. di 115°-120° C., 10 gr. di farina e si ripetea l'operazione sino a costanza di peso. La differenza in peso è riferita a 100 gr. di farina.

Per la *determinazione dell'acidità* si mescolava 1 gr. di farina disseccata, come sopra, con una quantità di acqua distillata in modo da formare una pappa non densa, e poi si neutralizzava con una soluzione n/10 di potassa caustica; i cmc. di questo soluto riportati a 100 gr. di farina secca e moltiplicati per il coefficiente 0,009 ci danno l'acidità totale espressa in acido lattico.

DATA	Colonie in 1 grammo di farina			Umidità per cento	Acidità per cento	Glutine				Caratteri della farina e del glutine
	Schizomiceti	Muffe	Spore			Umido per cento	Secco per cento	Capacità per l'acqua	Estensibilità	
1° Campione.										
15 dicembre 1900	6111	206	287	11.2	0.270	40.0	13.5	66.2	42°	Glutine giallo-chiaro, compatto, elastico, di odore grato.
15 gennaio 1901.	19920	1706	384	18 6	0.370	36.0	12.5	66.2	34°	Glutine giallo-scuro, compatto, elastico, di odore grato. Farina di aspetto buono.
15 febbraio 1901.	42370	17905	1328	32.0	0.439	33.0	11.0	66.6	25°	Glutine grigiastro con lieve odore di muffito poco elastico. Farina discretamente buona.
15 marzo 1901.	37224	39706	2320	39.0	0.882	29.0	9.0	69.0	—	Glutine grigio-brunastro, disgregato, dilatazione all'aleurometro inferiore a 25°. Farina scura, rappresa in grumi, con lieve odore di muffito.
15 aprile 1901	22000	56200	1316	42.0	1.072	20.0	8.0	60 5	—	Idem.

DATA	Colonie in 1 grammo di farina			Umidità per cento	Acidità per cento	Glutine				Caratteri della farina e del glutine
	Schizomiceti	Muffe	Spore			Umido per cento	Secco per cento	Capacità per l'acqua	Estensibilità	
2° Campione.										
18 dicembre 1900	5300	104	1200	11.0	0.269	41.0	13.6	66.8	44°	Glutine giallo-chiaro, compatto, molto elastico, di odore grato.
18 gennaio 1901	14000	1304	1120	16.0	0.303	39 0	13.0	66.6	37°	Glutine giallo-pallido, compatto, elastico, di odore grato. Farina di aspetto buono.
18 febbraio 1901. . . .	18000	27900	912	28.0	1.332	31.0	11.0	64.5	—	Glutine grigiastro, poco elastico, senza odore. Farina discretamente buona.
18 marzo 1901.	31900	131000	1316	39.0	2.360	18.0	6.0	66.6	—	Glutine disgregato, grigio-bruno, di odore spiacevole. Farina scura, con odore spiacevole.
18 aprile 1901.	29200	173416	2109	51.0	2.909	7.0	2.0	71.4	—	Glutine grigio-bruno, con odore di muffito. Farina con odore di putrefazione.

DATA	Colonie in 1 grammo di farina			Umidità per cento	Acidità per cento	Glutine				Caratteri della farina e del glutine
	Schizomiceti	Muffe	Spore			Umido per cento	Secco per cento	Capacità per l'acqua	Estensibilità	
3° Campione.										
20 dicembre 1900	10260	176	421	12.9	0.230	44.0	14.7	66.6	46°	Glutine giallo-chiaro, compatto, molto elastico, di odore grato.
20 gennaio 1901	16000	782	220	14.6	0.248	44.0	14.0	66.6	39°	Glutine giallo-pallido, compatto, elastico, di odore grato. Farina di aspetto buono.
20 febbraio 1901	31000	1206	1788	20.0	0.788	38.0	12.2	67.9	26°	Glutine grigiastro, poco elastico, alquanto disgregato, senza odore. Farina discretamente buona.
20 marzo 1901	63200	32708	7211	29.5	1.360	35.0	11.0	68.5	—	Glutine grigio-bruno, disgregato, di odore spiacevole. Farina di aspetto mediocre con odore spiacevole.
20 aprile 1901	21000	120000	2300	39.0	2.720	21.0	8.0	62.0	—	Glutine con evidente odore di muffito. Farina di odore e aspetto cattivo.

DATA	Colonie in 1 grammo di farina			Umidità	Acidità	Glutine				Caratteri della farina e del glutine
	Schizomiceti	Muffe	Spore	per cento	per cento	Umido per cento	Secco per cento	Capacità per l'acqua	Estensibilità	
4° Campione.										
22 dicembre 1900	11560	276	321	11. 0	0. 360	45. 0	14. 8	67. 1	48°	Glutine giallo-chiaro, compatto, molto elastico di odore grato.
22 gennaio 1901	19000	9200	412	16. 0	0. 435	42. 0	13. 5	67. 8	40°	Glutine giallo-pallido, compatto, elastico, di odore grato. Farina di aspetto buono.
22 febbraio 1901	64000	18746	796	27. 0	1. 064	38. 0	12. 8	66. 3	35°	Glutine giallo-scuro, poco elastico. Farina discretamente buona.
22 marzo 1901	21900	29311	1230	35. 0	1. 284	36. 0	12. 0	66. 6	26°	Glutine grigiastro, alquanto disgregato, con odore spiacevole. Farina di aspetto discreto, cou odore poco buono.
22 aprile 1901	16000	79210	988	46. 0	2. 019	27. 0	8. 0	67. 4	—	Glutine grigio-scuro, disgregato, con odore di muffito. Farina oscura, raggrumata, con spiccato odore di muffa.

DATA	Colonie in 1 grammo di farina			Umidità per cento	Acidità per cento	Glutine				Caratteri della farina e del glutine
	Schizomiceti	Muffe	Spore			Umido per cento	Secco per cento	Capacità per l'acqua	Estensibilità	
					5° Campione.					
24 dicembre 1900	11120	112	376	12.0	0.364	45.0	14.5	70.0	49°	Glutine giallo chiaro, elastico compatto, di odore grato.
24 gennaio 1901.	12600	212	1600	15.5	0.394	44.0	14.0	68.2	43°	Glutine giallo-pallido, compatto, elastico, di odore grato.
24 febbraio 1901.	27000	9600	1315	21.0	0.720	39.0	13.2	66.1	39°	Glutine giallo-scuro, compatto, elastico, di odore grato. Farina di aspetto buono.
24 marzo 1901.	20200	29364	2111	26.0	0.902	36.0	12.0	66.6	27°	Glutine grigiastro, poco elastico, senza odore. Farina discretamente buona.
24 aprile 1901.	11000	114000	3900	38.0	alcalina	19.0	5.0	73.7	—	Glutine grigio-scuro, disgregato, con odore di muffito. Farina di aspetto cattivo.

DATA	Colonie in 1 grammo di farina			Umidità per cento	Acidità per cento	Glutine				Caratteri della farina e del glutine
	Schizomiceti	Muffe	Spore			Umido per cento	Secco per cento	Capacità per l'acqua	Estensibilità	
					6° Campione.					
27 dicembre 1900	3790	71	327	11.2	0.255	43.0	14.2	66.9	49°	Glutine giallo-chiaro, compatto, molto elastico, di buon odore.
27 gennaio 1901	11500	3200	1100	16.4	0.244	41.0	13.7	66.6	36°	Glutine giallo-pallido, elastico, di odore buono.
27 febbraio 1901.	16900	15912	736	22.0	0.370	36.0	12.0	66.6	30°	Glutine giallo-scuro, poco elastico, senza odore particolare. Farina di aspetto buono.
27 marzo 1901.	21100	28000	640	29.0	0.453	29.0	10.0	65.5	28°	Glutine grigiastro, alquanto disgregato, con odore spiacevole. Farina discretamente buona.
27 aprile 1901.	15900	66540	1826	39.0	0.739	25.0	6.0	76.0	25°	Glutine grigio-bruno, disgregato, con odore di muffito. Farina di aspetto discreto, con lieve odore di muffito.

I risultati avuti nelle esperienze riferite permettono di constatare quanto segue:

Col crescere dell'umidità aumenta considerevolmente il contenuto in germi e questo aumento si avvera in primo tempo principalmente nella classe degli schizomiceti; però dopo un certo tempo questi non crescono più, anzi diminuiscono e prendono invece il sopravvento gli ifomiceti; tale comportamento diverso, rispetto alla data nella moltiplicazione degli ifo- e schizomiceti, potrebbe probabilmente collegarsi ai mutamenti della reazione nelle farine, che poco acide prima diventano in seguito troppo acide, per opera forse degli schizomiceti stessi.

Di pari passo col crescere dei germi e dell' acidità si modificano meno la quantità, più le qualità fisico-organolettiche del glutine; mai nelle farine in esame, quando ai nostri sensi si rivelavano ancora intatte nel loro aspetto esteriore, la quantità del glutine raggiunse cifre inferiori a quelle riscontrate in farine fresche di qualità bassa; al contrario molti caratteri fisico-organolettici di esso si modificarono di tanto da differire nettamente da quello di farine fresche, qualunque ne sia il numero di marca.

Se quindi le variazioni quantitative non sono un mezzo di riconoscimento della iniziata alterazione spontanea delle farine, quelle qualitative invece, e specialmente quelle del colore e dell'estensibilità, sono anzi tempo capaci di attestare la freschezza o non di una farina.

Il glutine costantemente perde, non appena iniziati i processi di decomposizione, il suo bel colorito *giallo-chiaro*; questo comincia prima ad affievolirsi e poi diventa *giallo-scuro*, quindi *grigio-giallastro* e finalmente *grigio-scuro*; quest'ultimo colorito si ha negli stadî assai avanzati dell'alterazione.

Il *potere di estensibilità* del glutine va sempre abbassandosi e non è più segnato dall'aleurometro, ancora prima che la farina cambi evidentemente di aspetto.

I mutamenti dell'*odore* e della *elasticità* (1) non sono spiccati nei primi stadî, si rendono tali a periodo inoltrato dell'alterazione nella derrata.

---

(1) Colla denominazione - *estensibilità* - intendiamo la proprietà che ha il glutine, quando lo si stira, di distendersi più o meno lungamente senza spezzarsi. La dilatazione nello aleurometro è funzione dell'estensibilità.
Col nome - *elasticità* - indichiamo il potere che ha il glutine, quando si comprime o si stira alquanto, di riprendere in tutto o in parte il volume o la forma primitiva.

In talune farine, anche negli stadî non molto progrediti di decomposizione, il glutine non si può raccogliere in una massa compatta e tenace, e si presenta più o meno fortemente disgregato.

Dati questi mutamenti così spiccati nei caratteri di un costituente della farina, quando questa va incontro ad un processo di alterazione, *l'esame fisico ed organolettico del glutine,* sopratutto dell'estensibilità misurata coll'aleurometro, *deve reputarsi come indispensabile per l'apprezzamento igienico della farina di frumento;* un tale esame, oltrechè facile e rapido, dà risultati attendibili in ogni caso, tranne nelle miscele di farina di frumento con farina di altri cereali.

***

Alla fine della compilazione del presente lavoro ci pervenne una pubblicazione del dott. Montella dal titolo: *Sulle alterazioni naturali delle farine,* — nella quale sono esposte delle ricerche in parte identiche alle nostre, ma i cui risultati differiscono quasi del tutto dai nostri (1).

Secondo l'esperienze del Montella: *le proprietà fisiche e i caratteri organolettici del glutine non sono mezzi sensibili per riconoscere le alterazioni naturali delle farine.* Difatti l'A. ha trovato che: le diminuzioni ponderali del glutine, data la quantità molto oscillante di esso nelle varie qualità di farine sane, non sono tali da potere rivelare le prime tappe di un guasto naturale delle farine; *nei caratteri organolettici non si nota cambiamento alcuno allo infuori dell'odòre di muffe, il quale apparisce però quando l'alterazione è molto avanzata; l'elasticità* (2) *del glutine piuttosto che diminuire, aumenta e, caso strano, in alcune farine arriva a un grado mai raggiunto quando erano sane.* (Per es. in una farina di marca 1, il grado di estensibilità del glutine, misurato coll'aleurometro Boland, da 34° che era in principio, sale dopo un periodo di circa 3 mesi all'enorme cifra di 57° mai raggiunta dal glutine di qualsiasi farina sana, e si noti che in t le momento il glutine emanava *odore di muffa specialmente riscaldato in stufa;* in un'altra farina di marca 2 il grado di elasticità del glutine da 29° perviene dopo 3 mesi a 40°, e anche questa volta il glutine avea acquistato odore di muffa a caldo e a freddo).

A questi risultati del Montella, che riguardo ai caratteri organolettici e all'estensibilità del glutine discordano nettamente dai nostri, basterebbe opporre le asserzioni per lunga esperienza emesse da indubbie autorità scientifiche. In proposito ci limitiamo a trascrivere quanto affermano i Professori Hilger, Witmak, Halencke e Mœslinger, secondo i quali (come leggesi a pag. 43, vol. II del *Vereinbar. z. einheitl. Untersuch. u, Beurtheilung von Nahrungs-und Genussmitteln* —, un libro da servire di norma per l'esame dei mezzi alimentari nell'Impero tedesco) « le farine sane di frumento contengono non meno del 25 °/₀ di glutine umido, il quale è elastico, tenace, molto estensibile; al

(1) Vedi: Questi Annali, Vol. XI, 1901, fasc. 2.

(2) Il dott. Montella adopera indifferentemente per una stessa proprietà il nome di elasticità ed estensibilità.

contrario in una farina proveniente da grano germogliato o alterato per cattiva e molto umida conservazione, *il glutine è più friabile, più scarso, meno elastico e facilmente si spezza quando lo si vuole stendere.* »

Nondimeno per uno speciale riguardo alla quistione e per valutare quale nell'esame di una farina valga di più, se l'esame fisico-organolettico del glutine o la determinazione del rapporto ceneri-grasso, indicato dallo Scala e confermato dal Montella come indice costante e sensibile, abbiamo creduto bene di imprendere una 2ª serie di esperienze, nelle quali si è tralasciato l'esame batteriologico e si è curata invece la determinazione delle ceneri e del grasso, o a meglio dire dello estratto etereo.

Per seguire grado a grado le modificazioni chimico-fisico-organolettiche delle farine, si credette opportuno analizzare queste ad intervalli non lunghi e mantenere l'umidità delle farine entro limiti non molto elevati, per non provocare un processo di rapida fermentazione.

Ad ottenere quest'ultima condizione abbiamo conservato i due campioni di farina, scelti per queste nuove ricerche, in alberelle provviste di coperchio a smeriglio, nell'interno delle quali si è collocato un vasetto di cristallo contenente acqua; in questo modo si aveva una piccola superficie di evaporazione e i fatti risposero in realtà alle previsioni, poichè l'umidità, come dalle tabelle seguenti, non superò il 21 $^0/_0$ e la comparsa di odore di muffa, indice di avanzata alterazione, si ebbe dopo lungo tempo nonostante l'elevata temperatura atmosferica (28°-32° C) durante il periodo delle nostre esperienze. La farina era 2-3 volte la settimana accuratamente mescolata, specialmente prima di prelevare le porzioni da sottoporre all'esame.

In queste nuove esperienze il disseccamento fu fatto a 100°-105°; l'acidità ricercata è stata quella della farina secca mescolata con acqua distillata e poi filtrata (acidità solubile in acqua); per l'estrazione del glutine si adoperarono non 50 ma 30 gr. di farina; le ceneri e l'estratto secco si determinarono *more solito*.

DATA	Umidità per cento	Acidità per cento	Ceneri per cento	Grasso per cento	Rapporto tra ceneri e grasso	Glutine				Caratteri del glutine e della farina
						Umido per cento	Secco per cento	Capacità per l'acqua	Estensibilità	
Farina Marca **0.**										
29 luglio 1901.	12 71	0.09	0.92	2 77	1:3	46.3	17.6	62.0	43°	Glutine elastico, giallo-chiaro, odore grato.
16 agosto 1901	14.23	0.33	1.10	2.38	1:2.16	45.5	14.6	67.9	31°	Glutine elastico, giallo-pallido, odore grato.
8 settembre 1901	16.1	0.39	1.14	1.12	1:1	42.2	14.1	66.6	meno di 25°	Farina di aspetto buono. Glutine poco elastico, giallo-grigiastro, senza odore particolare.
23 settembre 1901	19.3	0.48	1.16	0.08	—	40.0	12.9	67.7	meno di 25°	Glutine poco elastico, grigio, con lieve odore di muffito. Farina di aspetto ancora discreto.

DATA	Umidità per cento	Acidità per cento	Ceneri per cento	Grasso per cento	Rapporto tra ceneri e grasso	Glutine				Caratteri del glutine e della farina
						Umido per cento	Secco per cento	Capacità per l'acqua	Estensibilità	
Farina Marca **1.**										
26 luglio 1901.	15. 26	0. 27	1. 42	3. 02	1 : 2. 12	49. 4	20. 0	59. 5	42°	Glutine elastico, giallo-grigiastro, con odore grato.
9 agosto 1901.	16. 93	0. 76	1. 46	2. 23	1 : 1. 52	44. 2	15. 9	64. 0	27°	Glutine poco elastico, grigio-sbiadito, senza odore apprezzabile.
23 agosto 1901	17. 91	0. 79	1. 49	1 42	1 : 0. 95	44. 9	15. 5	63. 2	meno di 25°	Glutine poco elastico grigio-scuro, odore lieve di muffito. Farina di aspetto discreto.
23 settembre 1901	20. 85	0. 84	1. 53	0. 56	—	42. 9	14. 7	65. 7	meno di 25°	Glutine inelastico, grigio-scuro, odore netto di muffito. Farina scura con lieve odore di muffa.

NB. Avendo nei 2 campioni esperimentati, trovata una percentuale di grasso alquanto elevata rispetto alla media riportata dalle analisi di varie marche di farina, abbiamo voluto ripetere il saggio in altri campioni di farina già messi in commercio, ed abbiamo dovuto in base ai seguenti dati:

Numero d'ordine	Umidità per cento	Ceneri per cento	Grasso per cento	Rapporto ceneri-grasso
I	14 04	1. 25	1. 94	1 : 1. 55
II	13. 14	0. 70	2. 42	1 : 3. 43
III.	12. 37	0. 80	2. 5	1 : 3. 12

Convenire che le percentuali di grano variano di molto da farina a farina, sian pure della stessa marca.

Un esame rapido della tabella fa riconoscere che entrambi i due costituenti, glutine ed estratto etereo, subiscono dei cambiamenti notevoli da un breve periodo all'altro; già dopo 28-39 giorni, nonostante l'umidità non fosse oltre il 18 °/₀, il glutine nel suo potere di estensibilità e nelle sue qualità organolettiche, così come l'estratto etereo nel suo rapporto con le ceneri (che variano di poco) hanno risentito modificazioni sufficienti per rivelare, prima che fosse percepito dai nostri sensi, il guasto subito dalle farine. Non si potrebbe, tenuto conto del numero scarso di campioni esaminati, giudicare quale dei due costituenti, glutine e grasso, si modifica più presto e conseguentemente si presta meglio a svelare le prime alterazioni di una farina; per far ciò si dovrebbe non solo analizzare un numero maggiore di campioni di farina, ma anche analizzarli ad intervalli più brevi di quelli da noi adottati.

Ma nel nostro caso è meglio ponderare il valore pratico, che l' esame dell'uno e dell' altro componente ha pel giudizio igienico di una farina; poichè in una ricerca a scopo bromatologico, tra due metodi di analisi merita la preferenza quello che, pur essendo meno sensibile, sia però più facile e più spedito, dia risultati sempre uguali qualunque sia l'operatore e non faccia incorrere in possibili errori nel caso di adulterazioni.

Questi pregi prevalgono nell'esame fisico e organolettico del glutine: chiunque può farlo e in breve tempo; il grado aleurometrico può variare con i diversi operatori al massimo di 1 grado; la aggiunta di sostanze estranee non può alterare i risultati; così anche nel caso di miscela di farine guaste con farine sane, l'avaria subita da una parte della miscela è svelata bene colla analisi del glutine.

Altrettanto non può dirsi della determinazione delle ceneri e dell'estratto etereo; è un esame che può e deve essere affidato a chi sa e dispone di mezzi e di tempo per farlo, a chi ha capacità anche, mezzi e tempo per discernere le possibili manipolazioni suscettibili di alterare il rapporto vero di ceneri e grasso.

Concludendo, quindi, la ricerca dei caratteri fisico-organolettici del glutine nella quasi generalità dei casi ci fornisce il mezzo più comodo di

apprezzare la bontà di una farina di frumento; mentre la determinazione del rapporto cenerigrasso può solo in mano ad esperti bromatologi servire come mezzo sussidiario o riprova.

Prima di chiudere la presente nota, ci si permetta di fare una osservazione di importanza, pel momento, puramente scientifica.

Il Montella a giustificare perchè il glutine non debba alterarsi prima, che il guasto della farina sia abbastanza evidente, e perchè invece prima di esso si modificano i grassi, afferma, appoggiandosi ai lavori di Scala (*Le Staz. sperimentali agrarie*, 1896, fasc. 1) e di Valagussa e Ortona (questi *Annali*, Vol. X, 1900), *che le muffe vivono prevalentemente a spese degli idrati di carbonio e dei grassi.*

Ci si può osservare che nelle miscele di farina di frumento con farina di altro cereale o di leguminose, e così anche nelle farine fresche e genuine di frumento, di marca scadente, ricche cioè di cellulosa, il glutine è talvolta così modificato nei suoi caratteri, da dovere dubitare in ogni caso se la cattiva qualità del glutine di una data farina non sia la conseguenza di una fermentazione vera ma invece di una adulterazione. Or bene a ciò possiamo ri·pondere con alcune considerazioni, che se non risolvono la questione dal punto di vista tecnico, valgono però a semplificarla dal lato pratico.

Nel caso delle farine miscelate, se la frode è rilevante, allora sarà facile scoprirla con mezzi semplici e rapidi e discernere che il glutine è modificato pel fatto stesso della miscela; che se la frode non fosse esagerata e non si potesse riconoscerla por deficienza di cognizioni tecniche oppure di tempo, allora la deduzione dallo scondizionamento del glutine, che la farina in esame deve essere alterata, si allontanerebbe, è vero, dalla realtà, ma ciò nondimeno colpirebbe la frode e servirebbe bene ai fini sanitarii.

Nel caso di farine ricche di cellulosa, il glutine è solo allora modificato. quando allo scopo di finamente polverizzare la cellulosa, si sono adoperati cilindri molto ravvicinati e conseguentemente la farina ha dovuto subire un riscaldamento eccessivo. Dato quindi che il glutine si trovi per una tale causa scondizionato, sebbene in simili casi si tratti di un fatto puramente fisico, non è perciò un errore deplorevole per i fini igienici se una tale farina si dichiari fermentata e se ne proibisca il consumo, poichè in realtà tale farina non si presta per l'alimentazione.

Sul riguardo possiamo osservare che finora non è stato sperimentato se le alterazioni naturali delle farine siano o non dovute esclusivamente alle muffa (1). Come risulta dalle ricerche di Bernheim, De Giaxa e altri e dalle nostre, sono gli schizomiceti, anzi, i più numerosi a riscontrarsi nella farina anche dopo qualche tempo di conservazione in ambienti umidi; le muffe si moltiplicano e hanno il sopravvento quando la farina ha acquistato una reazione abbastanza acida, non sappiamo se per opera dell'una o dell'altra specie batterica.

---

(1) In proposito in questo Istituto d'Igiene sono in corso delle ricerche intese a studiare l'opera di ciascuna specie di protofiti in rapporto al tempo, al grado e alla natura delle alterazioni naturali delle farine.

Dobbiamo poi infine obiettare che in nessun lavoro biologico riguardante il meccanismo di nutrizione degli ifomiceti e neanche nelle pubblicazioni di Scala e di Valagussa e Ortona si legge: *le muffe nutrirsi prevalentemente di elementi ternari.*

Scala, solo come una semplice opinione, non confortata da ricerche sperimentali proprie o di altri, scrive: « quando le farine cominciano ad alterarsi, i grassi si distruggono per azione, sembra, *delle sarcine...* ».

Valagussa e Ortona asseriscono in base alle loro ricerche che: « il grasso (del latte) per il semplice fatto della vegetazione delle muffe, quali esse siano, diminuisca in ragione diretta dell'attività culturale delle muffe stesse »; e in altro punto della loro pubblicazione aggiungono: « lo studio degli ifomiceti nel campo della batteriologia e sopratutto lo studio della loro azione si può dire ch'è appena abbozzato. »

Dunque nè il Valagussa e Ortona e tanto meno lo Scala hanno voluto o potuto attribuire alle muffe una nutrizione fatta prevalentemente di sostanze ternarie.

Ottobre 1901.

Istituto d'Igiene della R. Università di Roma

Contributo allo studio del gruppo "Oidii,,

pel dott. **ACHILLE CARNEVALI**

Due gruppi di microrganismi furono negli ultimi tempi argomento di speciali richieste da parte degli studiosi: il gruppo dei *blastomiceti*, cioè, e quello degli *oidii*.

Il gruppo dei blastomiceti è stato molto bene studiato dal Sanfelice (1), il quale ha distinto le forme isolate in base ai loro caratteri morfologici e biologici, distribuendoli però in parecchi sotto-gruppi, dei quali alcuni sono costituiti soltanto da oidii.

Più tardi, il Casagrandi (2) isolò un gran numero di blastomiceti, controllando i metodi di classifica fino allora indicati, ed accennò alla difficoltà di giungere alla diagnosi di ogni forma di blastomicete, valendosi soltanto dei caratteri morfologici. Indicò quindi tutti i criteri, dei quali si deve tener conto per tale scopo, e sulla guida di essi diede in parecchi suoi lavori la descrizione di alcune forme (isolate dalle feci, dall'urina, ecc.) veramente bene individualizzate (3).

Riguardo agli oidii, seguendo lo stesso indirizzo di studio, non s'era fatto alcunchè di notevole fino a questi ultimi tempi, e precisamente fino al lavoro del Cao (4), eseguito nel laboratorio del Sanfelice.

Questi isolò da diversi materiali (succhi di frutta, feci, prodotti patologici, ecc.) 41 forme di oidii, di cui fece la descrizione dividendoli in quattro gruppi, di cui dirò più oltre.

Anch'io ho voluto occuparmi di questo argomento, ed in un lungo periodo di tempo ho isolato le più diverse forme di blastomiceti e di oidii, e le ho sottoposte ad uno studio morfologico e biologico accurato: ed intendo appunto con questo lavoro riferire i risultati ottenuti.

---

(1) Questi Annali, Vol. IV, 1894.
(2) Id. id., Vol. VIII, 1898.
(3) Id., id., Vol. VII–VIII, 1897–98 e Boll. Soc. Lanc., 1900.
(4) Zeitsch. f. Hygiene, 1900.

I.

Parte generale.

Mi parve anzitutto importante lo stabilire che cosa si dovesse intendere per « oidio ».

In generale si credono oidii « *quelle forme di funghi a cellule allungate, capaci di moltiplicarsi per gemmazione, e di formare anche dei filamenti settati identici a quelli che si vedono negli ifomiceti* ».

In altre parole, si credono oidii quei funghi che stanno fra gli ifomiceti ed i blastomiceti.

In questo concetto sono d'accordo gli autori che più di recente si sono occupati dell'argomento, quali il Casagrandi (1) e il Cao.

Le forme filamentose degli oidii non si trovano in tutti i substrati di nutrizione, od in tutti i materiali nei quali vivono questi microrganismi.

Nei substrati solidi, specialmente quando lo sviluppo avviene in profondità, si trovano spesso delle forme che si moltiplicano esclusivamente per gemmazione come fanno i blastomiceti, senza dar luogo ad alcuna forma filamentosa settata.

A me pare opportuno insistere molto su questo fatto, giacchè esso può far credere blastomiceti dei veri oidii.

Ad evitare l'errore basta trasportare queste forme in un liquido culturale zuccherato, per avere la formazione dei filamenti proprii degli oidii. A questo scopo io ho usato il brodo ordinario con l'aggiunta di una soluzione acido-glucosata (Casagrandi), altri ha adoperato invece il mosto (Cao).

La filamentazione delle cellule avviene a qualunque temperatura, e non è affatto necessario di tenere i tubi nel termostato a 37°; anzi si raggiunge meglio l'intento tenendo le colture alla temperatura ambiente (20°).

---

(1) Il Casagrandi dice infatti che, quando nei terreni liquidi le cellule dei blastomiceti si allungano e si dispongono a serie, si hanno quelle specie di ramificazioni che ricordano gli ifi; ma di ifi nello stretto senso della parola non si può parlare, perchè manca la fusione delle pareti cellulari nei punti ove cellule e cellule stanno in contatto. Il Casagrandi attribuisce a ciò una importanza differenziale, aggiungendo che se gli oidii dànno luogo a forme filamentose, queste sono sempre rappresentate da veri ifi, ossia da forme settate; nei blastomiceti invece le forme così dette ifiche sono vere e proprie catene più o meno allungate.

A. — *Caratteri morfologici.*

Per ciò che riguarda *la forma delle cellule oidiche*, considerando quelle che stanno isolate, si può dire che esse appaiono allungate con estremi leggermente pianeggianti, ad angoli arrotondati. Talora se ne vedono di forma ovoide od elissoide, ed anche di quelle in cui un estremo è nettamente acuminato, così da parer simili alle *cellule a limone* indicate come tipiche per taluni blastomiceti.

Comunque, dalla forma soltanto non è facile il distinguere una cellula oidica. Chi ha creduto di poter differenziare oidii da blastomiceti esclusivamente in base ai caratteri morfologici, è caduto spesso in errore; e si comprende come parecchi autori abbiano creduto veri oidii quelle forme allungate, *a cellule a bodino*, che non formano filamenti settati, e che sono state giustamente descritte come blastomiceti dal Casagrandi. Così il *saccaromyces guttulatus*, che non forma mai ifi, ma che in dati substrati di nutrizione può formare cellule a bodino, e che è interpretato dal Cao come un oidio, è un blastomiceto.

Io stesso ho osservato parecchie volte delle forme blastomicetiche a bodino, che però non formavano in alcun substrato di nutrizione dei filamenti settati, ed appunto per questo ho escluso che si trattasse di oidii. Del resto i poli di queste speciali forme blastomicetiche (a bodino) non sono mai pianeggianti come quelli delle cellule oidiche, ma invece sensibilmente rotondeggianti.

Quanto al significato botanico della cellula oidica isolata (perchè dei filamenti non è il caso di parlare, trattandosi di miceli), io ho voluto studiarne parecchie per vedere se qualcuna poteva avere il significato di *asco* o di *sporangio*, così come lo ha qualche cellula blastomicetica (?).

Il Cao afferma che gli oidii hanno di comune coi blastomiceti le cellule e gli aschi, ma non sussidia di dimostrazione sufficiente questo asserto che, confermato, avrebbe indiscutibile importanza.

Infatti se si trovasse la forma ascofora negli oidii, questo gruppo di microrganismi troverebbe un posto ben definito nel gruppo degli ascomiceti; mentre fino ad ora si collocano nel gruppo di funghi imperfetti, forme di passaggio di altri piccoli esseri (?).

Per parte mia ho osservato che nè in substrati solidi (agar acido, neutro od alcalino, patate, rape, carote, poltiglie di amidi diversi, glicerinati e non glicerinati), nè in substrati liquidi, si sviluppano delle forme oidiche che presentano nel loro contenuto dei corpi analoghi alle spore. I corpicciuoli rotondi, ovoidi, fortemente

rifrangenti la luce, che si vedono talvolta in alcune forme oidiche, e che potrebbero credersi spore, diversificano dalle vere spore dei blastomiceti. In queste, oltrechè la rifrangenza spiccata, si vede sempre un contorno ben delineato che dà l'idea di una membrana nettamente distinta; d'altra parte la rifrangenza delle vere spore dei blastomiceti è molto minore di quella dei grossi corpi rifrangenti che si trovano nelle cellule oidiche. Piuttosto questi corpi sono paragonabili a quelle gocciole che si trovano nell'interno di certi blastomiceti, specialmente a forme rotonde, trasformati in *Dauernzellen*. E che ciò sia, è facilmente dimostrabile da questo fatto osservato seguendo il procedimento del Casagrandi (1) per l'estrazione di questo materiale. Quest'A. infatti, trattando coi solventi in genere dei grassi il contenuto delle cellule blastomicetiche, riuscì ad estrarre tali gocciole, ed a stabilire che esse erano rappresentate da grassi. Or bene, trattando nello stesso modo le cellule oidiche, si riesce ad estrarre dalle medesime quei corpi rifrangenti.

A mio modo di vedere non è quindi possibile fino ad ora di parlare di forme ascofore negli oidii, così come se ne parla a proposito dei blastomiceti; cioè la cellula oidica non può paragonarsi in alcun modo ad uno sporangio.

Riguardo al contenuto della cellula oidica, si hanno finora delle osservazioni molto incomplete.

Io ho visto che, oltre ad un protoplasma finamente granuloso (specialmente nelle forme lunghe), negli oidii si trovano facilmente 1 o 2 vacuoli, raramente di più

Ed oltre i vacuoli si notano anche dei corpi rifrangenti, in vario numero, di varia grandezza, i quali assumono abbastanza facilmente le colorazioni aniliniche. Questi granuli si diportano nella stessa maniera di quegli elementi sferici, od ovoidi, fortemente rifrangenti la luce, a cui ho accennato poc'anzi: sono cioè estraibili coi solventi dei grassi. Per ciò non possono differenziarsi da quelli che si trovano nei blastomiceti, e meritano l'interpretazione che loro fu loro data dal Casagrandi (2), quella cioè di *elaioplastidii* primitivi senza contenuto reticolare dimostrabile.

Colle osservazioni fatte finora non si può dire in modo sicuro che la cellula oidica abbia nel suo contenuto un nucleo: può parer strano dal punto di vista della biologia l'ammettere l'esistenza di elementi cellulari che si moltiplicano senza nucleo, pur tuttavia vi

(1) Questi Annali, Vol. IX, 1899.
(2) Il Naturalista Siciliano, Anno II, 1896.

sono molti osservatori degni di fiducia, come il Cao ad esempio, i quali negano senza riserva la presenza del nucleo nella cellula oidica. Io però credo che prima di giungere ad una conclusione sì fatta, che sta contro i comuni principii di biologia, sia necessario il dimostrare di aver fatte numerose osservazioni, con tale tecnica d'indagine che giustifichi meglio un risultato pur che sia.

Si può dire intanto che anche la ricerca del nucleo nei blastomiceti ha subìto e subisce le stesse vicende cui va soggetta la ricerca del nucleo negli oidii. Infatti i vacuoli dei blastomiceti furono creduti nuclei; i granuli di grasso furono creduti granuli di cromatina; tutto il contenuto protoplasmatico fu creduto nucleo, e si ritenne che la membrana rappresentasse il protoplasma.

Ma quando si cercò di liberare dal contenuto cellulare il grasso, e si tentarono delle colorazioni speciali o specifiche pei nuclei, si rinvenne nei blastomiceti qualche cosa che permetteva di pensare ad un nucleo. Così infatti il Buscaglioni (da solo prima poi col Casagrandi), colorando il *saccaromyces guttulatus* coll'ematossilina, e decolorando con allume di ferro, ne mise in evidenza il nucleo.

Trattando nello stesso modo alcuni oidii io ho osservato, specialmente nelle cellule isolate, la presenza di un corpo assolutamente indipendente dai granuli, il quale assume la colorazione violetta, e si presenta come un addensamento protoplasmatico allungato nel senso dell'asse della cellula, a contorno un po' irregolare ed a contenuto finamente granuloso.

Nel punto di divisione di alcune cellule gemmanti ho osservato un corpo analogo, foggiato a biscotto, che mi ha ricordato il così detto *mittelstuck* trovato dal Buscaglioni e dal Casagrandi (1) nel *Sacc. guttulatus*.

Nelle cellule oidiche disposte a filamenti raramente si trovano dei corpi analoghi, ma accade talora di vedere nell'interno del corpo protoplasmatico come una linea colorata in violetto, che dà l'idea di un nucleo molto allungato. In questa linea si trova spesso qualche punticino più intensamente colorato (granuli di cromatina ?).

Per queste osservazioni io tendo ad ammettere che gli oidii siano forniti di nucleo: chi ne esclude la presenza forse fonda il giudizio sul fatto di non averlo visto in preparati a fresco, od in preparati colorati coi metodi comuni, ciò che è troppo poco.

---

(1) Questi Annali, Vol. VIII, 1898.

La cellula oidica è contornata da una membrana che non è unistratificata. In seguito a plasmolisi, accade di osservare spesso in alcuni punti (anche delle cellule giovani) il distacco di una porzione periferica da una più centrale della membrana. In alcune cellule molto vecchie che non si filamentano, il numero degli strati della membrana può essere anche maggiore; e ciò ha analogia con quello che si osserva nella membrana dei blastomiceti.

Per ciò che riguarda la costituzione di questa membrana, io non riuscii a metterne in evidenza la costituzione cellulosica.

Le reazioni, fatte a scopo uguale dal Casagrandi per la membrana dei blastomiceti (1), dimostrano che quella degli oidii si diporta analogamente; però essa è molto meno resistente, specialmente all'acido cromico ed all'acido solforico. In base ai risultati sulla natura chimica della membrana dei blastomiceti studiati dal Casagrandi, si potrebbe ritenere che la membrana degli oidii abbia costituzione pectosica.

B. — *Caratteri colturali.*

Ho studiato il modo di svilupparsi degli oidii da me isolati, in gelatina per infissione ed a piatto, in agar a becco di flauto, in brodo, in patate, ecc., scegliendo quasi sempre i terreni acidi, in cui lo sviluppo è più rigoglioso, più rapido e più caratteristico.

Colture a piatto in gelatina acidificata con acido tartarico. — Prima d'ogni altra cosa giova notare che coloro che hanno dato i caratteri delle colonie oidiche non hanno tenuto conto del numero delle cellule dalle quali si genera la colonia. Con tale sistema è facile cadere in errori; infatti le colonie che si originano per la gemmazione di una sola cellula sono in massima diverse da quelle che si originano per la gemmazione di diverse cellule. Le prime hanno a principio di sviluppo l'apparenza di punticini biancastri, umidicci, rilevati, che man mano crescono presentando una fina areolatura alla superficie (dato che si tratti di colonie superficiali) poichè se si tratta di colonie profonde, quest'areolatura per lo più non si nota.

Invece le colonie che si originano per gemmazione di diverse cellule, si mostrano più grandi, areolate fin da principio; il centro della colonia non ha superficie liscia, ma anfrattuosa. Talora l'areolatura ai bordi si trasforma in una vera raggiatura. Sì fatta distinzione è però difficile a farsi, poichè coi metodi di diluizione

(1) Il Naturalista Siciliano, Anno II, 1896.

che si usano comunemente è quasi impossibile di seminare in una piastra di gelatina ogni cellula separata dall'altra.

Questo inconveniente fu notato anche pei blastomiceti in rapporto al loro selezionamento dal Lindner, il quale ha consigliato di dibattere prima le emulsioni delle cellule blastomicetiche in tubi contenenti della sabbia sterilizzata.

Questo metodo è realmente molto utile per dividere le cellule blastomicetiche, ma per le oidiche non è sempre sufficiente, perchè le emulsioni di queste contengono cellule isolate ed anche cellule filamentate. Esso riesce abbastanza bene solo se il materiale proviene da substrati solidi, nei quali le forme filamentose sono di solito scarse.

Anche alcuni blastomiceti possono presentare delle colonie simili a quelle ora descritte, e specialmente quelle forme blastomicetiche a cellule allungate.

Che in questi casi si tratti di blastomiceti e non di oidii, è certo: giacchè queste forme trasportate in terreni liquidi non dànno mai filamenti e ramificazioni. Non mi pare quindi esatto il ritenere che il tipo di colonia blastomicetica descritta [Casagrandi (1)] che si riporta al tipo della colonia oidica, debba far pensare piuttosto agli oidii che ai blastomiceti come afferma il Cao.

Colture per infissione in gelatina glucosata, acida. — In queste colture si osserva per parte di moltissime forme, uno sviluppo quasi esclusivamente superficiale; la superficie del cilindro di gelatina si copre di una patina raggiata, che si estende man mano e si infossa.

Ma vi hanno delle specie che non fluidificano la gelatina, e che vi si sviluppano anche lungo l'infissione, formando delle barboline laterali specialmente nella parte più alta dell'infissione stessa, fino a raggiungere le pareti del tubo.

In questi casi le forme oidiche ricordano perfettamente alcune forme blastomicetiche, che presentano pure un'infissione a barbe, ma meno marcata che nelle forme oidiche. Di recente ho isolato dall'acqua un comune *hefe rosa*, che in infissione presentava appunto simili barbe.

Non v'è dunque motivo perchè le forme blastomicetiche che in infissione in gelatina dànno barbe, debbano interpretarsi come oidii. come vorrebbero alcuni.

Colture per strisciamento su agar alcalino ed acido. — Le patine che si sviluppano su agar alcalino sono spesso molto diverse da quelle che si sviluppano su agar acido, *coeteris paribus*. Fra le pa-

(1) Loc. cit.

tine su agar alcalino se ne trovano delle umide, poltacee, senza areolatura ai bordi, od almeno questa compare assai tardi. Altre invece sono diffuse, spesse, pieghettate areolate ai bordi; ma questo modo di sviluppo è più specialmente caratteristico se gli oidii sono coltivati in agar acido. In questo terreno anzi la patina per molti diventa così consistente che difficilmente la si può distaccare, e ciò propriamente quando le colture sono fatte da qualche settimana. Le forme che gli AA. hanno descritto come capaci di formare patine umide, poltacee, facilmente distaccabili, sono state studiate forse considerandone lo sviluppo su agar alcalino; oppure si sono confuse con quelle forme blastomicetiche che per essere allungate vengono erroneamente interpretate come oidii.

Per me quindi ha un valore fondamentale il criterio differenziale tra blastomiceti ed oidii che si deduce dallo sviluppo di questi microrganismi sull'agar acido.

Colture su patate. — Lo sviluppo è diverso a seconda degli oidii: in genere si notano delle patine pieghettate, rugose, che in superficie assumono aspetto polveroso man mano che la coltura invecchia.

In alcuni casi vi sono degli oidii che presentano su patate una patina vellutata così caratteristica da non ammetter dubbio sulla loro identità. Delle patine omogenee, umide, su patate si notano spesso quando queste siano tenute in camere sature di vapor d'acqua, e quando le patate non abbiano reazione acida. Le patine che si hanno sulle patate tenute in ambiente umido rassomigliano molto a quelle dei blastomiceti, e sono facilmente distaccabili, ma trasportate in patate acide ed in ambiente poco umido riprendono il loro aspetto caratteristico. Si può dunque ritenere (Casagrandi) che « le patine degli oidii su patate siano sempre asciutte, vellutate alla superficie, irregolari ai bordi, difficilmente distaccabili. »

Colture in brodo. — Anche lo sviluppo degli oidii nei terreni liquidi è diverso secondo che questi terreni sono acidi od alcalini. Lo sviluppo nei substrati alcalini è molto lieve per gran numero di oidii: alcuni si sviluppano solo al fondo in forma di deposito fioccoso simile a quello del carbonchio; altri si sviluppano in superficie formando dei veli facilmente disgregabili, veli che ricordano perfettamente quello di alcuni blastomiceti che si sviluppano però così in terreni acidi. Lo sviluppo degli oidii in brodo acido invece, avviene in forma di velo spesso, con ripiegature (visibili specialmente quando la coltura invecchia) per lo più membranoso e difficilmente disgregabile; al fondo di questi substrati si ha rilevante deposito fioccoso.

II. — Parte speciale.

Premessi questi dati generali sui caratteri degli oidii ricavati dallo studio sintetico degli oidii in genere, vediamo ora se è possibile dedurre da caratteri singoli il criterio per differenziare oidio da oidio.

Si può dire che degli studii esaurienti sul proposito non sono stati fatti. Il Cao, sulla guida del metodo adottato dal Sanfelice per aggruppare i varii blastomiceti fra di loro, ha tentato di distinguere gli oidii da lui studiati in 4 gruppi, in base ai caratteri delle patine su culture in agar e su patate, ed in modo subordinato in base anche ai loro caratteri morfologici ed al loro potere patogeno. Però tra l'uno e l'altro di essi vi sarebbero delle forme oidiche di *passaggio.*

Lo studio che io ho fatto di parecchi oidii da me isolati m'induce a credere che sia molto difficile il riunire in determinati gruppi gli oidii più noti soltanto in base ai loro caratteri morfologici o colturali.

Intanto è tale la variabilità della forma e della grandezza degli oidii, che non è possibile stabilire l'identità dell'una o dell'altra forma, specialmente quando variino le condizioni del mezzo di nutrizione. Anche la proprietà costante degli oidii di filamentarsi, e di sepimentarsi, è un dato di grande valore distintivo solo quando sia sufficiente l'esperienza di chi osserva.

Inoltre i caratteri culturali che si rilevano dall'aspetto delle patine su terreni solidi, e dalle ramificazioni delle colonie e dalle infissioni in gelatina, non dànno maggiori e migliori mezzi per la distinzione di oidio da oidio.

Quanto all'azione patogena di varii oidii isolati da diverso materiale, non posso affermare di avere ottenuto da tale studio sussidio sufficiente a differenziarli in modo assoluto l'uno dall'altro, o da costituirne gruppi più o meno definiti.

Oidii identici per ogni loro carattere ad alcuni descritti dal Cao come capaci di determinata azione patogena, da me inoculati negli animali non hanno prodotto fatti degni di nota; solo inoculati in grandi quantità hanno prodotto grave marasmo.

Piuttosto mi è sembrato di una certa utilità, per distinguere le varie forme di oidii, lo studio di certi loro caratteri biologici: l'azione degli oidii sugli zuccheri invertiti e non invertiti, sul latte e sull'amido di riso glicerinato.

Quasi esclusivamente in base a questi caratteri io ho cercato di differenziare parecchi oidii che avevo tentato di riunire insieme in base ai loro caratteri morfologici e colturali, e rispetto alla loro forma ne ho stabilito dei tipi che si rilevano dai seguenti quadri:

1° Tipo a cellule elissoidi, che si ramificano solo in substrati liquidi, che formano patine membranacee solo nei substrati solidi zuccherati invecchiati e sulle patate.

Tipo	Sviluppo in latte	Inversione del saccarosio	Fermentazione del glucosio	Saccarificazione dell'amido
1	coagula	—	+	—
2	id.	+	+	+
3	id.	—	—	—
4	id.	+	—	+
5	non coagula	—	+	—
6	id.	+	—	—
7	id.	+	+	—
8	id.	—	+	—
9	id.	—	+	+
10	id.	+	—	—
11	coagula	—	—	—

2° Tipo a cellule a bodino che si ramificano nei substrati liquidi e solidi, e che formano in questi substrati patine membranacee.

Tipo	Sviluppo in latte	Inversione del saccarosio	Fermentazione del glucosio	Saccarificazione dell'amido
1	non coagula	+	—	+
2	id.	+	+	+
3	coagula	—	+	—
4	id.	—	—	+
5	id.	+	+	—
6	id.	+	—	
7	id.	—	—	+
8	non coagula	—	—	—
9	id.	—	+	?
10	id.	—	—	—

3° Tipo a cellule allungate (di varia forma), formanti patine cotennose sull'agar e sulle patate, e che si ramificano facilmente in questi substrati.

Tipo	Sviluppo in latte	Inversione del saccarosio	Fermentazione del glucosio	Saccarificazione dell'amido
1	coagula	—	—	—
2	non coagula	—	+	—
3	id.	+	+	—

4° Tipo a cellule allungate (in sezione quasi rettangolare) che formano patine membranose, pieghettate, polverose sull'agar e sulle patate.

Tipo	Sviluppo in latte	Inversione del saccarosio	Fermentazione del glucosio	Saccarificazione dell'amido
1	coagula	—	+	—
2	id.	—	+	+
3	id.	+	+	—
4	non coagula	+	+	+
5	coagula	—	—	—
6	non coagula	+	+	+
7	id.	—	—	—
8	id.	+	—	—
9	coagula	—	+	—
10	id.	+	+	—

5° Tipo a cellule allungate (di varia forma) che si filamentano quasi tutte, sia nei substrati liquidi, che nei substrati solidi ove formano patina cotennosa vellutata.

Tipo	Sviluppo in latte	Inversione del saccarosio	Fermentazione del glucosio	Saccarificazione dell'amido
1	coagula	—	—	+
2	id.	+	+	+
3	id.	—	+	+
4	non coagula	+	+	+

domandarci se accanto ai componenti chimici del latte bene noti, sui quali fino ad ora si è sempre portata esclusivamente la nostra attenzione, non esistano ancora altri elementi che sfuggono all'analisi chimica, ma che però devono essere presi in considerazione ed i quali senza contribuire direttamente alla costituzione dell'organismo, sono tuttavia di una importanza capitale per la prosperità del bambino nel senso di favorire l'assimilazione delle sostanze assorbite.

Questo è il concetto che ha guidato Escherich nel formulare la sua ipotesi: ora non è davvero mio còmpito riferire qui dettagliatamente le ragioni che ve lo hanno indotto, avendole lui stesso molto bene illustrate; a me basterà intanto accennare come essa fino a questo momento sia basata sopra osservazioni cliniche, sopra argomenti di analogia e sopra qualche esperienza di laboratorio.

Ed in vero i molteplici studi fino ad ora eseguiti sul latte e sull'allattamento hanno da tempo condotto all'attuazione dei due grandi principii moderni, su cui anche al presente si basa l'allattamento artificiale, cioè la sterilizzazione del latte animale ed i vari metodi proposti per correggere la differente composizione chimica di esso a confronto di quello di donna (*maternizzazione*). D'altra parte l'esperienza di moltissimi anni ha dimostrato che se, seguendo scrupolosamente questi principii, si è certamente fatto un passo notevole sulla questione dell'allattamento artificiale, pure siamo ancora ben lungi dal possedere un equivalente completo del latte muliebre. Imperocchè i bambini anche allevati con tutte queste cautele, salvo rarissime eccezioni, crescono e si nutriscono tutt'altro che prosperamente (pallore e flaccidità delle carni, debilità muscolare, predisposizione alle malattie, ecc.), differiscono moltissimo da quelli allevati al seno, vanno soggetti a ripetuti disturbi gastro-intestinali e con troppa frequenza all'atrofia ed al rachitismo.

Ora una plausibile spiegazione del perchè l'allattamento artificiale è sempre tanto inferiore a quello naturale potrebbe esserci fornita da alcune recenti ricerche, che tendono appunto a dimostrare che il latte lungi dall'essere un liquido inerte, destinato cioè solamente all'alimentazione, è dotato anche, come tutti i tessuti viventi, di proprietà biochimiche speciali. Difatti si sa che nel latte in date circostanze possono trovarsi delle sostanze, la cui presenza non sia rivelabile dall'analisi chimica, ma dalla sperimentazione: tutto ciò è dimostrato dall'esperienza classica di Ehrlich sull'immunità dei lattanti; dalla presenza nel latte della tossina ed antitossina tetanica e difterica (Schmid e Pflanz), della tossina ed agglutinina tifica

ed anche delle tossine tubercolari (Maffucci e De Michele), dalle osservazioni sulle proprietà battericide ed attenuanti del latte (Tokker, Scheese, Basemann), dalle interessanti osservazioni di Bordet e di Schütze sulla proprietà conferita al sangue di alcuni animali convenientemente trattati di coagulare il latte, ed infine dalla scoperta di Béchamp, la più importante di tutte dal lato nostro, riguardo all'esistenza del fermento amilolitico nel latte di donna. Si può dunque con molto fondamento di probabilità supporre che nel latte di donna esistano normalmente anche altri principii attivi oltre quelli fisico-chimici già noti, ai quali si debba attribuire la floridezza della nutrizione del bambino allevato al seno. Ed invero noi sappiamo già che la nutrizione è sotto la dipendenza di due operazioni bene distinte: la prima è la digestione propriamente detta del materiale introdotto e che si compie nel tubo gastro-enterico per opera di speciali fermenti nutritivi (zimasi) elaborati dalle ghiandole salivari, peptiche, dalla secrezione pancreatica ed enterica, dalla flora batterica dell'intestino, ecc., i quali trasformano gli alimenti in prodotti capaci di venire assorbiti; la seconda, la più importante, riguarda l'assimilazione, la metamorfosi cioè che subisce nell'intimità dei tessuti il materiale organico assorbito, per cui questo diventa vivo, organizzato ed infine protoplasma cellulare. Questa ultima operazione, per servirmi delle stesse parole del Marfan (2) si compie per la maggior parte mercè l'opera di fermenti solubili, che derivano dalle secrezioni interne (Brow-Sequard): cioè certi organi e specialmente certe ghiandole, elaborano delle zimasi che si versano nella circolazione e agiscono da veri fermenti della nutrizione (trofo-zimasi), poichè essi stimolano e regolano gli scambi nutritivi. Per cui l'utilizzazione delle sostanze nutritive assorbite, in una parola, l'assimilazione e la disassimilazione e cioè l'alimentazione interna delle cellule è in buona parte sotto la dipendenza di questi enzimi, che regolano così il ricambio interstiziale dei singoli tessuti. Ora è certo che l'organismo del bambino quando viene alla luce è abbastanza incompleto, specialmente per ciò che riguarda lo sviluppo ghiandolare (Baginski), e quindi noi possiamo domandarci se esso sia capace di produrre una quantità sufficiente di questi fermenti e se quelli che elabora siano abbastanza attivi. Le ricerche fino ad ora eseguite a tale riguardo conforterebbero questa ipotesi: difatti Zweifel ha dimostrato la poca attività dei fermenti digestivi nel neonato, e Pfaundler la debolissima attività del fermento ossidante del fegato. Per cui il bambino di tenera età segrega poche zimasi digestive e poche zimasi nutritive.

Ma come la natura provvede all'insufficienza dei fermenti digestivi preparando nell'organismo materno il latte, che oltre l'essere di facile digestione, sembra che contenga anche una certa quantità di zimasi digestive, così è probabile che provveda anche all'insufficienza dei fermenti nutritivi mettendo nel latte materno delle trofozimasi.

Questa è in breve la nuova teoria di Escherich, svolta in seguito anche dal Marfan a proposito dell'allattamento artificiale e dal Concetti a proposito dell'atrofia primitiva infantile. Essa però fino ad ora è tutt'altro che dimostrata ed è rimasta nel campo delle ipotesi, aspettando prove più concrete; giacchè anche al dire dello stesso Escherich gli argomenti in suo favore sono fino ad ora troppo scarsi ed incompleti, ed attende argomenti dimostrativi più diretti da studi ulteriori, i quali, come osserva il Marfan (3), dimostrando pure che il latte contiene dei fermenti solubili, dovranno anche risolvere alcune questioni di grandissimo interesse ad esso inerenti e cioè: 1° se questi fermenti solubili siano mancanti o differenti in tutto od in parte nelle diverse specie di animali; 2° se nel caso affermativo sia questa la causa dell'inferiorità dell'allattamento artificiale di fronte a quello naturale; 3° ovvero, nel caso negativo, se impunemente si possa nella pratica e fino a qual punto rimpiazzare i fermenti materni con quelli contenuti nel latte degli animali; 4° inoltre se, mancando tale differenza nei fermenti del latte dei vari animali, vi siano delle condizioni capaci di renderli uguali nei vari latti; 5° e se potendosi ciò ottenere od avere anche spontaneamente non sia un danno il distruggerli nel latte animale mediante il calore.

Ora stando la questione a questo punto e trattandosi di un argomento, che è il più interessante della pediatria, ho creduto opportuno intraprendere delle ricerche sperimentali nella speranza di poter contribuire alla soluzione dei problemi ad essa inerenti.

Parte I.

Ricerca dei fermenti solubili (zimasi).

La letteratura medica a tale riguardo non è davvero, almeno fino ad ora, molto ricca.

La prima menzione del fatto che il latte contiene dei fermenti solubili è dovuta al chimico Béchamp (4), che dimostrò esistere nel latte di donna una diastasi (da lui chiamata *Galactozimasi*) capace di trasformare l'amido in zucchero, diastasi mancante nel latte di vacca, di asina e di altri mammiferi.

In seguito il Bouchut (5) ha confermato i risultati di Béchamp, ammettendo che tale *fermento amilolitico* è di una importanza tutt'altro che trascurabile. Recentemente poi il Moro (6), allievo di Escherich, studiando sistematicamente tale fermento ha confermato la scoperta di Béchamp; che anzi in tale occasione Escherich fa notare come a prima vista tale fatto mostri un vero *gaspillage* della natura, perchè nel latte di donna non vi è traccia di sostanze amidacee, per cui la presenza di un fermento saccarificante sembra addirittura inutile. Ma oltre che ciò si deve senza dubbio riguardare come la prova dell'esistenza di altri fermenti, noi vedremo in seguito come con molta probabilità possa darsi una spiegazione anche di tale fatto.

In seguito Marfan e Gillet (3) hanno rinvenuto nel latte un fermento appartenente al gruppo delle *ossidasi* e precisamente un'*anaerossidasi*, la quale è molto attiva nel latte di vacca, invece lo è pochissimo nel latte di donna, tanto che alcune volte sembra anche mancante e per conseguenza anche per le sue reazioni chimiche non è del tutto identica a quella del latte di vacca.

Gli stessi autori hanno inoltre riscontrato che il latte materno è dotato di un fermento saponificante (*lipasi*) molto attivo, che scinde i grassi neutri in acidi grassi e glicerine, fermento che è però meno energico nel latte di vacca.

Il Nobécourt ed il Mercklen (7) hanno trovato nel latte di donna un fermento *idratante* che sdoppia il salolo in acido fenico ed acido salicilico, e che si rinviene pure nel latte di cagna e di asina, ma non in quello di vacca e di capra.

Infine anche nella nostra clinica, dietro consiglio del mio maestro professore Concetti, Luzzatti e Biolchini (8), studiando in quest'anno i fermenti già noti comparativamente negli animali più usati per l'allattamento, hanno concluso che nel latte di donna esiste un'attiva diastasi saccarificante, che manca nel latte di vacca e capra, che invece pare contengano una diastasi glucolitica; allo stesso modo si comporta il fermento idratante del salolo; mentre la lipasi si rinviene più o meno attiva in tutti i latti.

Questo è fino ad ora tutto quello che si conosce di preciso sui fermenti nel latte! Come si vede ancora è ben poco e quindi si rendeva necessario l'intraprendere una ricerca sistematica di questi fermenti nel latte dei vari animali; giacchè in tal modo oltre a contribuire alla risoluzione della ipotesi di Escherich, si potrà risolvere anche l'altra questione, non meno importante, sulla natura di questi fermenti e se effettivamente fino a qual punto il latte di diversa provenienza è dotato di fermenti diversi.

Per eseguire nel miglior modo possibile un tale studio era necessario attenersi ad una delle tante classificazioni descritte nei libri dai vari autori a proposito dei fermenti solubili; a me è sembrato più conveniente attenermi a quella del Duclaux (9), il quale come si sa li divide in 4 categorie: 1° coagulanti e decoagulanti;

2° idratanti e disidratanti; 3° ossidanti e disossidanti; 4° decomponenti e ricomponenti.

Anche dietro un rapido esame degli studi fino ad ora eseguiti nel latte intorno alla presenza dei fermenti solubili, risulta evidente che i fermenti del latte al presente noti riguardano soltanto due delle quattro categorie del Duclaux e precisamente la 2ª (amilasi-lipasi e quello del salolo) e la 3ª (anaerossidasi).

Si rendeva quindi necessario, oltre che il ripetere le esperienze sui fermenti già noti, il cercarne anche dei nuovi: ed a tale riguardo io ho naturalmente scelto quelli appartenenti alla 1ª e 4ª categoria della classificazione del Duclaux non ancora studiati, scegliendo tra essi quelli che presentavano maggiore interesse scientifico e pratico, e precisamente la *tripsina* e la *pepsina* (1ª categoria del Duclaux) ed il *fermento glucolitico* (4ª categoria).

La tecnica da me adottata in tutte queste ricerche sarà descritta a proposito di ciascun fermento, giacchè talune volte è stata modificata da quella già nota: peraltro fino da ora è utile accennare ad alcuni dettagli, che, essendo stati comuni a tutte le esperienze, trovano qui il loro posto.

Il latte da me esaminato mi era fornito dalle vacche, capre, asine, cagne, ed esso veniva confrontato non solo tra l'uno e l'altro, ma sempre con quello di donna. Tale latte veniva raccolto asetticamente in recipienti previamente sterilizzati, per evitare l'azione dei germi, i quali potevano alterare i risultati delle esperienze. Che anzi per maggiore garanzia praticavo le culture di questi campioni di latte da esaminare ed a seconda del risultato tenevo conto delle ricerche praticate: per altro debbo dire che nella grandissima maggioranza dei casi le colture rimanevano perfettamente sterili. Inoltre debbo aggiungere che, per maggiore garanzia mettevo nella provetta da saggio, contenente il latte su cui si eseguivano le esperienze, anche alcune goccie di una soluzione alcoolica di timolo, il quale, come si sa, pure essendo un buon antisettico, non esercita una vera azione deleteria sui fermenti solubili: il tutto poi veniva posto in termostato per un tempo variabile, ed anche ad una temperatura non uguale per ogni esperienza, ma che oscillava tra un minimo di + 37 ed un massimo di + 41.

Da ultimo è necessario qui dire che le ricerche eseguite sopra ciascun fermento le ho fatte prima precedere dalla così detta prova in bianco, cioè col latte appena munto, e non solo, ma, come controprova, tali ricerche venivano eseguite contemporaneamente e nelle indentiche condizioni, anche collo stesso latte però bollito alla pressione ordinaria.

α) *Fermento amilolitico.*

Come sopra è stato detto, Béchamp, Bouchut e Moro avevano dimostrato non solo l'esistenza di tale fermento, ma anche la sua energia funzionale nel latte di donna, ed invece la mancanza nel latte di vacca, asina e capra.

Io nel ripetere le esperienze le ho volute estendere anche al latte di *cagna*, che fino ad ora era stato trascurato per riguardo all'amilasi. La tecnica da me eseguita a tale proposito è stata quella già nota ed abbastanza semplice fondata sulla trasformazione delle sostanze amidacee in zuccaro per opera del fermento amilolitico, che si sarebbe dovuto trovare nel latte preso in esame. La constatazione della avvenuta o meno reazione veniva praticata mercè l'analisi chimica, che talune volte mi sono limitato a farla solo qualitativa e tal'altra anche quantitativa Ed ecco come procedevo.

In una provetta da saggio sterilizzata ponevo 5 ovvero 10 cm^3 del latte da esaminare, vi aggiungevo da 1/4 ad 1 - 2 - 5 cm^3 di una soluzione di salda di amido (fecola pura di patata) al 2 per cento previamente sterilizzata, inoltre alcunegoccie della soluzione di timolo, ed il tutto bene tappato ponevo al termostato. Dopo trascorso il tempo stabilito (V. appresso tabelle) saggiavo il latte soltanto con alcune goccie di una soluzione iodo-iodurata però allungatissima (4 - 5 goccie in 20 cm^3 di acqua distillata) quando mi volevo limitare alla sola analisi qualitativa e dal colore che assumeva la miscela di latte ed amido potevo stabilire se la reazione era positiva ed inoltre se la trasformazione dell'amido si era fermata all'eritrodestrina, od era ginnta sino all'acrodestrina; quando invece volevo fare anche l'analisi quantitativa, allora, seguendo la tecnica comune, col relativo di Fehling, non avevo che a dosare lo zuccaro prima e dopo l'esperienza, e lo zuccaro che eventualmente avessi trovato in aumento, mi rappresentava evidentemente quello trasformato dal fermento e quindi comparando poi in ultimo i vari risultati ottenuti, potevo calcolare anche l'energia di cui esso era dotato.

Il latte su cui ho sperimentato durante questa prima serie di ricerche mi veniva fornito da animali tenuti al loro vitto ordinario e cioè: capra, saina e vacca a vitto erbivoro, cagna a vitto omnivoro, presso a poco allo stesso modo che la donna; nè si deve credere che sia superflua una tale distinzione, giacchè, come vedremo nel corso ulteriore di queste esperienze, ad alcuni animali è stato in seguito cambiato vitto.

Ed ora credo più opportuno trascrivere senz'altro in apposita tabella protocolli di laboratorio riguardanti specificatamente le singole ricerche eseguite sul latte di ciscun animale.

TABELLA I.

Numero d'ordine	DATA	Epoca del parto	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Quantità di salda di amido aggiunta (2 %)	Durata della permanenza in termostato	Te. p rata
1	16 luglio 1901 . .	18 mesi	5 cmc.	—	5 cmc.	20 h	38°
2	Id. . .	2 mesi	id.	—	id.	24 h	38°
3	18 luglio 1901 . .	40 giorni	id.	..	id.	30 h	39°
4	20 luglio 1901 . .	id.	id.	—	id.	27 h	39°
5	21 luglio 1901 . .	6 mesi	id.	..	id.	24 h	39°
6	6 agosto 1901 . .	18 mesi	id.	—	id.	12 h	3[illegible]°
7	5 settembre 1901.	14 mesi	id.	+ (sarcina)	id.	24 h	4[illegible]°
8	9 settembre 1901.	5 mesi	id.	..	id.	36 h	4[illegible]°
9	17 settembre 1901.	9 mesi	id.	..	id.	26 h	38°
10	18 settembre 1901.	40 giorni	id.	—	id.	40 h	40°

atte di donna.

Reazione										Osservazioni
Latte crudo					Latte bollito					
Qualitativa		Quantitativa			Qualitativa		Quantitativa			
		Zuccaro nel latte per %					Zuccaro nel latte per %			
Eritrodestrina	Acrodestrina	Prima	Dopo	Differenza	Eritrodestrina	Acrodestrina	Prima	Dopo	Differenza	
..	+	..	..	..	..	—	..	..	..	
..	..	5	5.80	+0.80	..	..	5	5	0	
..	+	..	..	..	..	—	..	..	..	
..	+	..	..	..	..	—	..	..	..	Il latte è stato tenuto sotto ghiaccio 8 h prima dell'esperienza.
..	..	6.30	7.40	+1.10	..	..	6.30	6.25	— 0.05	7 h sotto ghiaccio.
..	+	..	..	..	..	—	..	..	..	9 h sotto ghiaccio.
..	+	..	..	..	..	—	..	..	..	
..	..	6.70	7.92	+ 1.22	..	..	6.65	6.65	0	5 h sotto ghiaccio.
..	+	..	..	..	..	—	..	..	..	
..	+	5.10	5.85	+0.75	..	..	5.12	5.10	— 0.02	

TABELLA II. — La

Numero d'ordine	DATA	Epoca del parto	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Quantità di salda di amido aggiunta (2 %)	Durata della permanenza in termostato	Temperatur
1	19 giugno 1901 . .	10 giorni	5 cmc.	—	2 cmc.	24 h	39°
2	21 giugno 1901 . .	12 giorni	id.	..	3 cmc.	34 h	39°
3	26 giugno 1901 . .	17 giorni	id.	—	5 cmc.	24 h	40°
4	29 giugno 1901 . .	20 giorni	id.	+ (stafilococco)	5 cmc.	26 h	40°
5	2 luglio 1901 . .	23 giorni	id.	..	id.	20 h	38°
6	5 luglio 1901 . .	26 giorni	id.	—	id.	30 h	37°
7	7 luglio 1901 . .	28 giorni	id.	—	id.	32 h	38°
8	9 luglio 1901 . .	30 giorni	id.	..	id.	22 h	39°

NB. — Il latte per questa serie di esperienze è stato sempre fornito dalla cas

agna omnivora.

Reazione										
Latte crudo					Latte bollito					Osservazioni
ualitativa	Quantitativa				Qualitativa		Quantitativa			
	Zuccaro nel latte per °/₀						Zuccaro nel latte per °/₀			
Acrodestrina	Prima	Dopo	Differenza		Eritrodestrina	Acrodestrina	Prima	Dopo	Differenza	
+	..	..	..		..	—	..	..	..	
+	..	..	..		..	—	..	.	..	4 h sotto ghiaccio
..	3.43	3.90	+0.47		..	..	3.45	3.41	—0.04	
..	3.68	4.14	+0.46		..	..	3.68	3.68	0	6 h sotto ghiaccio
+	..	..	..		..	—	..	..	..	
+	..	..	..		..	—	..	..	..	
..	3.70	4.22	+0.52		..	..	3.73	3,73	0	
+	..	..	..		..	—	...	..	..	8 h sotto ghiaccio

TABELLA III.

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Quantità di salda di amido aggiunta (2 %)	Durata della permanenza in termostato	Te[illegible] rat[illegible]
1	5 luglio 1901	5 cmc.	—	1 cmc.	22 h	4[illegible]
2	Id.	id.	..	id.	48 h	4[illegible]
3	Id.	id.	..	3 cmc.	48 h	4[illegible]
4	9 luglio 1901	id.	—	1 cmc.	24 h	3[illegible]
5	Id.	id.	..	id.	38 h	3[illegible]
6	Id.	id.	..	2 cmc.	48 h	3[illegible]
7	15 luglio 1901	id.	—	$^1/_4$ cmc.	24 h	4[illegible]
8	Id.	id.	..	$^1/_2$ cmc.	36 h	4[illegible]
9	21 luglio 1901	id.	..	$^1/_2$ cmc.	32 h	3[illegible]
10	Id.	id.	..	2 cmc.	48 h	[illegible]

NB. — Il latte adoperato per queste ricerche proveniva da asine diverse.

Latte di asina.

Reazione										Osservazioni
Latte crudo					Latte bollito					
Qualitativa		Quantitativa			Qualitativa		Quantitativa			
		Zuccaro nel latte per °/。					Zuccaro nel latte per °/。			
Eritrodestrina	Acrodestrina	Prima	Dopo	Differenza	Eritrodestrina	Acrodestrina	Prima	Dopo	Differenza	
—	..	..	..	..	—	..	..	..	..	
—	..	..	..	..	—	..	..	..	..	
—	..	..	...	..	—	..	..	..	..	
-	..	..	..	..	—	..	..	..	..	
+	—	..	..	..	—	—	..	..	..	
+	—	6. 20	6. 52	+ 0. 32	—	..	6. 21	6. 19	- 0. 02	
—	..	..	..	..	—	..	..	..	..	6 h sotto ghiaccio
—	..	..	..	..	—	..	..	..	..	id.
+	—	..	..	..	—	—	..	..	..	4 h sotto hiaccio
+	—	6. 25	6. 73	+ 0. 48	—	..	6. 26	6. 25	— 0. 01	

TABELLA IV.

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Quantità di salda di amido aggiunta (2 %)	Durata della permanenza in termostato	Temperatura
1	18 luglio 1901	10 cmc.	—	1 cmc.	24 h	39°
2	Id.	5 cmc.	..	1/2 cmc.	48 h	39°
3	20 luglio 1901	10 cmc.	—	1 cmc.	36 h	40°
4	Id.	5 cmc.	..	1/2 cmc.	30 h	40°
5	3 agosto 1901	10 cmc.	+(sarcine)	1 cmc.	48 h	[illegible]
6	Id.	5 cmc.	..	1/4 cmc.	48 h	[illegible]
7	12 agosto 1901	10 cmc.	..	1 cmc.	30 h	[illegible]
8	Id.	5 cmc.	..	1/4 cmc.	48 h	[illegible]
9	15 agosto 1901	10 cmc.	—	1 cmc.	36 h	[illegible]
10	Id.	5 cmc.	..	1/2 cmc.	28 h	[illegible]

NB. — Il latte dei vari giorni era dato da vacche diverse.

…e di vacca.

Reazione										
Latte crudo				Latte bollito						Osservazioni
…alitativa	Quantitativa			Qualitativa		Quantitativa				
	Zuccaro nel latte per %					Zuccaro nel latte per %				
Acrodestrina	Prima	Dopo	Differenza	Eritrodestrina	Acrodestrina	Prima	Dopo	Differenza		
..	..	..	..	—	..	..	..	..		
..	..	..	..	—	..	..	..	..		
..	5	4.20	— 0.80	..	..	5	4.90	— 0.10		
..	..	..	..	—	..	..	..	..		
..	4.45	3.75	— 0.70	..	..	4.42	4.43	+ 0.01	5 h sotto ghiaccio.	
..	..	..	..	—	..	..	..	..		
..	4.20	3.10	— 1.10	..	..	4.10	4.10	0		
..	..	..	..	—	..	..	..	..		
..	4	3.10	— 0.90	..	..	4.05	4.03	— 0.02	8 h sotto ghiaccio.	
..	..	..	..	—	..	..	..	..		

TABELLA V. —

Numero d'ordine	ATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Quantità di salda di amido aggiunta (2 %)	Durata della permanenza in termostato	Tempe- ratur
1	12 luglio 1901	10 cmc.	—	1 cmc.	24 h	38°
2	Id.	5 cmc.	..	$^1/_2$ cmc.	30 h	38°
3	16 luglio 1901	10 cmc.	..	1 cmc.	24 h	39°
4	Id.	5 cmc.	..	$^1/_2$ cmc.	48 h	39°
5	18 luglio 1901	10 cmc.	—	1 cmc.	36 h	38°
6	Id.	5 cmc.	..	$^1/_4$ cmc.	48 h	38°
7	20 luglio 1901	10 cmc.	..	1 cmc.	24 h	40°
8	Id.	5 cmc.	..	$^1/_2$ cmc.	29 h	40°
9	2 agosto 1901	10 cmc.	—	1 cmc.	24 h	40°
10	Id.	5 cmc.	..	$^1/_4$ cmc.	32 h	39°
11	6 agosto 1901	10 cmc.	..	$^1/_2$ cmc.	42 h	38°

NB. — Il latte era proveniente da capre diverse.

... di capra.

Reazione										
Latte crudo					Latte bollito					Osservazioni
...alitativa	Quantitativa				Qualitativa		Quantitativa			
	Zuccaro nel latte per °/₀						Zuccaro nel latte per °/₀			
Acrodextrina	Prima	Dopo	Differenza		Eritrodestrina	Acrodestrina	Prima	Dopo	Differenza	
..	..	..	..		—	..	..	..	..	
..	..	..	..		—	..	..	..	..	
..	4	3. 20	— 0. 80		..	..	4	4	0	
..	..	..	..		—	..	..	..	..	
..	4.	3. 40	— 0. 60		..	..	4. 10	4. 08	— 0. 02	6 h sotto ghiaccio.
..	..	..	..		—	..	..	..	..	
..	..	..	..		—	..	..	..	..	
..	4	3. 20	— 0. 80		..	..	4	4	4	3 h sotto ghiaccio.
..	..	..	..		—	..	..	..	..	
..	..	..	..		—	..	..	..	..	
..	..	..	..		—	..	..	..	..	

Da tutte queste ricerche si può trarre la conclusione generale che il fermento amilolitico si riscontra sempre attivo nel latte di donna, ed in grado meno energico anche nel latte di cagna; esso è assolutamente e sempre mancante nel latte di vacca e di capra: invece nel latte di asina alle volte esiste sebbene molto meno energico (riesce per lo più a trasformare l'amido in eritrodestrina), ma spesse volte è del tutto mancante. Inoltre è risultato che la sua vitalità non rimane in alcun modo danneggiata dall'azione delle basse temperature (ghiaccio) anche durante molte ore; e che il suo potere funzionale si esplica egualmente bene alla temperatura di 38° e 40 centigradi, mentre tanto più il suo potere è energico e tanto minore tempo occorre perchè esso possa agire e viceversa, oscillando tra un minimo di 12^h (latte di donna) ad un massimo di 32-38^h (latte di asina). In pari tempo si è potuto constatare che non esiste alcuna differenza, almeno notevole, per riguardo anche all'energia funzionale di tale fermento in rapporto coll'epoca dell'avvenuto parto (donna-cagna); giacchè tanto nei primi tempi, quanto anche dopo molti mesi la reazione è stata pressochè identica. Come si vede poi il latte bollito non ha presentato mai variazioni sensibili, anche dopo varie ore, essendo riuscito sempre negativo l'esame del fermento. Da ultimo le cifre riferite specialmente nelle tabelle IV e V ci dimostrano come mentre nel latte di vacca e di capra non si trovai mai l'amilasi, esiste invece una costante differenza in meno sulla quantità dello zuccaro prima e dopo l'esperienza col latte crudo, mentre ciò non avviene col latte bollito, la quale cosa evidentemente sta a dimostrare, che in tali latti deve trovarsi un fermento glucolitico, sull'importanza del quale (anche per ciò che possa riguardare l'esattezza del metodo da me seguito per la ricerca quantitativa del fermento amilolitico) vedremo in seguito.

β) *Fermento tripsinico e peptico.*

Nessuno, all'infuori di un vago accenno fatto in proposito da Baboch e Russel (10) aveva fino ad ora fatto ricerche sistematiche di tali fermenti nè nel latte di donna, nè in quello di altri animali: eppure l'esistenza di essi sarebbe senza dubbio di notevole interesse scientifico e pratico, è certamente di gran lunga superiore a quello dell'amilasi, ossidasi, ecc.! giacchè nel latte mentre sono contenute molte sostanze albuminoidi, fanno invece difetto le sostanze amidacee. Era quindi necessario instituire ricerche in proposito, ma la

difficoltà maggiore consisteva nel metodo da adottare per la dimostrazione o meno dell'esistenza di tali fermenti nel latte.

L'idea che sembrava più logica e confacente allo scopo a prima vista era quella di procurare di isolare dal latte questi supposti fermenti, eppoi cercare di farli agire in vitro sulle sostanze albuminoidi, per vedere se queste venivano digerite e fino a qual punto. Difatti noi tentammo questo espediente adoperando il seguente procedimento: furono raccolti asetticamente (anche le culture del latte riuscirono sterili) 20 cm^3 di latte di donna in provetta sterilizzata; ad esso fu aggiunto un piccolo grumo di fibrina (ottenuto dal sangue di bue) bene lavato e privo di sangue. È noto che il grumo di fibrina ha la proprietà di attrarre e ritenere i fermenti solubili. Dopo trascorse 24 ore si toglieva il grumo di fibrina dal latte, si lavava ripetutamente e delicatamente con acqua sterilizzata in modo di disimpegnarlo da tutto il latte da cui era appreso, eppoi esso veniva diviso in due parti, di cui una delle quali entro una provetta da saggio veniva a trovarsi in ambiente alcalino per aggiunta di una soluzione di carbonato di soda; e l'altra parte entro un'altra provetta invece in ambiente acido per aggiunta di una soluzione di acido cloridrico al 2 $^{\circ}/_{\circ\circ}$.
È inutile che io qui insista in modo soverchio nel dire che tutte queste ricerche venivano da me eseguite nel modo più asettico possibile, per evitare le cause di errore in questa serie di esperienze assai facili a verificarsi, tenuto conto del fatto che moltissimi microrganismi sono capaci di segregare fermenti proteolitici, i quali avrebbero notevolmente alterati i risultati di queste esperienze. Tali provette da saggio venivano poi poste in termostato per $2\text{-}4^h$ alla temperatura di $+ 38^{\circ}$. Come si vede in tale modo io venivo a studiare contemporaneamente ambedue i fermenti (tripsina e pepsina) con lievi modificazioni di tecnica, fondandomi però sullo stesso principio, ed ecco perchè io ho creduto opportuno di trattare qui nello stesso momento la questione di questi due fermenti. Ora era evidente che, se questi grumi di fibrina venivano digeriti in tutto od in parte, l'esistenza del relativo fermento veniva ad essere dimostrata, una volta che fosse allontanata ogni causa di errore.

Per altro, senza entrare in questo momento nella descrizione del metodo da me seguito per la ricerca dell'avvenuta o meno digestione dell'albumina nelle provette da saggio (ciò che del resto si trova nei trattati di chimica fisiologica), debbo subito dichiarare che i risultati di questa serie di esperienze, ripetute più volte con diversi latti ed anche prolungando il tempo della degenza in termostato dei tubetti, sono stati completamente negativi tanto per ciò che riguarda il fermento tripsinico che il peptico. Ad eguale conclusione sono giunto sperimentando collo stesso procedimento sul latte di vacca e di capra. Ora nel mentre tali fatti mi procuravano da un lato la dimostrazione che i fermenti ricercati non si trovavano nel latte, dall'altra parte mi facevano nascere il sospetto che questo potesse anche dipendere dal fatto che il metodo da me seguito per la loro dimostrazione non fosse adattato allo scopo: difatti poteva darsi o che il fermento proteolitico (tanto tripsinico che peptico) pure esistendo nel latte esso fosse specifico (1) pei varii latti nel senso

(1) Difatti il Valagussa ha ciò dimostrato per la caseasi di vacca.

che digerisse solo le sostanze albuminoidi del latte appartenenti allo stesso individuo, che ha segregato il fermento, e non quelle di altro latte e molto meno poi la fibrina di bue (come nel caso nostro), ovvero che io col semplice grumo di fibrina non potessi riuscire ad isolare il fermento, perchè esso contemporaneamente esplicava la sua azione, trovandosi in ambiente adattato, sulle sostanze albuminoidi del latte stesso, invece che essere attratto ed immagazzinato per così dire dal grumo di fibrina. Giacchè è naturale il pensare che nel latte trovandosi in notevole quantità le sostanze albuminoidi, se esso contiene anche il fermento tripsinico, questo messo in un ambiente alcalino ed a + 39° deve evidentemente digerire tali sostanze del latte, rendendole solubili e trasformandole o in albumose, propeptone, od addirittura in peptone: lo stesso dicasi per riguardo alla pepsina, la quale però si sa che agisce soltanto in ambiente acido. Orbene a me è sembrato che fondandosi su quest'ultima considerazione, che aveva il vantaggio di eliminare anche le supposte cause di errore, potevasi benissimo raggiungere la dimostrazione dell'esistenza di questi due fermenti nel latte, dato che naturalmente essi vi si trovassero, seguendo appunto quest'altro procedimento che nel mentre era più semplice di quello adottato in precedenza, era anche più sicuro.

A tale scopo bastava determinare la presenza dell'albumina solubile (propeptone o peptone) nel latte da esaminare sia appena munto, che dopo tenuto in esperimento in termostato nei tubicini di saggio per un tempo determinato, ed infine come controprova con lo stesso latte tenuto alle identiche condizioni però bollito. Ed a proposito del latte bollito è necessario ricordare fino da questo momento come l'albumina cotta, trovandosi in ambiente acido (specialmente se a causa dell'acido cloridrico) alla temperatura di + 38°-40° viene in parte digerita e resa solubile pel solo fatto della presenza dell'acido cloridrico, indipendentemente dall'azione del fermento peptico. Per cui nel fare poi le reazioni chimiche occorreva tenere presente questo fatto, perchè non generasse errori od equivoci; tanto più che studi recenti hanno dimostrato che insieme al peptone anche alcune albumose non sono precipitate dal solfato di ammonio. Ma anche tenuto conto di tutto ciò le mie ricerche, come si potrà vedere dalle singole tabelle, non sono davvero riuscite meno dimostrative.

La parte più interessante da guardare nella tecnica di queste ricerche, acciò i risultati fossero attendibili, era appunto quella avanti già notata e cioè di condurre tutte le esperienze in un modo asettico, per raggiungere il quale intento, io non solo facevo le culture dal latte da sperimentare, ma

anche a ciascun tubicino da saggio aggiungevo come al solito, alcune goccie di una soluzione alcoolica di timolo, ed infine cercavo che anche le soluzioni per rendere acido od alcalino il latte fossero sterili. Dirò brevemente quale metodo ho adoperato per determinare la presenza di albumina solubile nel latte. Tra i molti indicati dai trattati di chimica fisiologica ho scelto quello che generalmente è ritenuto il più sicuro; vale a dire aggiungendo ad una data quantità di latte una determinata quantità di solfato di ammonio purissimo precipitavo a caldo tutte le sostanze albuminoidi del latte stesso, ad eccezione di alcuni propeptoni e del peptone, i quali rimanevano in soluzione, e cui poi potevo raccogliere, filtrando il tutto. Sul liquido così filtrato facevo poi la reazione caratteristica del biurete ovvero quella data dal liquido di Tanret. In tal modo sia dall'intensità del colorito che assumeva il filtrato (reazione del biurete), sia dalla maggiore o minore quantità di precipitato che in esso si formava (reazione di Tanret), io potevo convincermi non solo della presenza in esso di albumina solubile, ma in un certo modo anche della sua quantità (metodo relativo o di confronto). Come si vede, seguendo questo metodo, io mi limitavo a fare delle ricerche più che altro qualitative, cioè a provare solo l'esistenza di tali fermenti nel latte, non curandomi in questo momento di ricerche quantitative veramente esatte (dosaggio cioè dell'energia di tali fermenti) e ciò per la semplice ragione che occorreva avanti tutto studiarne l'esistenza. È evidente poi che per ricerche quantitative sarebbe stato necessario variare in parte la tecnica.

Basandomi su questi principii ecco come ho proceduto nelle singole esperienze: in una provetta da saggio sterilizzata ponevo 5 ovvero 10 cm^3 del latte da esaminare, eppoi, se si trattava di ricercare il fermento tripsinico, vi aggiungevo 2-3 cm^3 di una soluzione sterile di potassa caustica al 2 1/2 $^{0}/_{00}$ con caffeina all'1 $^{0}/_{00}$ in modo da rendere l'ambiente alcalino (si sa che la caffeina è uno degli alcaloidi che favorisce sensibilmente l'azione del fermento tripsinico in ambiente alcalino), e se invece si trattava di ricercare il fermento pepsinico, allora vi aggiungevo 1/2-1 cm^3 di una soluzione sterile di acido cloridrico al 2 $^{0}/_{00}$, infine alcune goccie della soluzione di timolo ed il tutto bene tappato ponevo al termostato alla temperatura di + 39°-40. Dopo trascorso il tempo stabilito (V. appresso tabelle), determinavo col metodo sopra descritto l'albumina solubile contenuta nel latte, su cui si era sperimentato.

Il latte durante questa prima serie di ricerche mi veniva fornito da animali tenuti al loro vitto ordinario, ed esso poi veniva sempre confrontato con quello di donna.

Siccome le ricerche riguardanti i due fermenti tripsinico e pepsinico sono state eseguite contemporaneamente e per ambedue è stata adottata la stessa tecnica, salvo la reazione dell'ambiente, così credo conveniente, anche per non moltiplicare in modo soverchio le varie tabelle, di riferire qui simultaneamente le osservazioni eseguite a carico di questi due fermenti.

È evidente che sarà assai facile distinguere in esse quando è che si faceva la ricerca del fermento tripsinico e quando di quello pepsinico, giacchè nel primo caso vi sarà notato che si aggiungeva la soluzione alcalina al latte da esaminare, mentre nel secondo caso si aggiungeva la soluzione acida. Infine per brevità col segno + sarà indicata semplicemente la reazione positiva *leggera* dell'albumina solubile; col segno ++ la reazione positiva *forte*, e col segno +++ la reazione positiva *spiccatissima*; mentre che col segno — verrà indicata la reazione negativa; oltre a ciò per ragioni di opportunità converrà aggiungere ancora quest'altro segno convenzionale + >, che indicherà un grado intermedio di reazione tra la *leggera* e la *forte*.

TABELLA VI

Numero d'ordine	DATA	Epoca del parto	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Reazione dell' albumina solubile	Quantità aggiunta di solu di	
						Potassa	Acid clorid
1	16 luglio 1901 . .	18 mesi	5 cmc.	—	—	1 cmc.	..
2	Id. . .	id.	id.	—	—	..	1 cm
3	Id. . .	2 mesi	id.	—	+	1 cmc.	..
4	Id. . .	id.	id.	—	+	..	1 cm
5	18 luglio 1901 . .	40 giorni	id.	..	—	2 cmc.	..
6	Id. . .	id.	id.	..	—	..	1 cm
7	20 luglio 1901 . .	id.	id.	—	—	2 cmc.	..
8	Id. . .	id.	id.	—	—	..	1 cm
9	21 luglio 1901 . .	6 mesi	id.	..	—	2 cmc.	..
10	Id. . .	id.	id.	..	—	..	1 c
11	6 agosto 1901 . .	18 mesi	id.	—	++	2 cmc.	..
12	Id. . .	id.	id.	—	++	..	1 c
13	14 agosto 1901 . .	2 mesi	id.	—	—	3 cmc.	..
14	Id. . .	id.	id.	—	—	..	1 c
15	5 settembre 1901 .	14 mesi	id.	+ (sarcina)	+	2 cmc.	..
16	Id. . .	id.	id.	id.	+	..	1 c
17	9 settembre 1901 .	5 mesi	id.	..	—	2 cmc.	..
18	Id. . .	id.	id.	..	—	..	1 c
19	18 settembre 1901 .	40 giorni	id.	—	+	3 cmc.	..
20	Id. . .	id.	id.	—	+	..	1 c

tte di donna.

Durata della permanenza in termostato	Temperatura	Reazione dell'albumina solubile				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte		Reazione del latte		
24 h	39°	neutra	+++	alcalina	—	
id.	39°	acida	+	acida	—	
25 h	39°	neutra	++	alcalina	+	
id.	39°	acida	++	..	..	
30 h	40°	alcalina	++	alcalina	—	
id.	40°	acida	++	acida	+	
26 h	40°	alcalina	+++	..	..	8 h sotto ghiaccio prima dell'esperienza
id.	40°	acida	+	..	..	
20 h	39°	alcalina	+++	alcalina	—	7 h sotto ghiaccio
id.	39°	acida	+	acida	+	
24 h	39°	alcalina	+++	alcalina	+++	
id.	39°	acida	+++	acida	+++	
27 h	40°	alcalina	+++	alcalina	—	6 h sotto ghiaccio
id.	40°	acida	+	..	..	
24 h	40°	alcalina	+++	alcalina	+	
id.	40°	neutra	+	neutra	+ >	
18 h	39°	alcalina	++	alcalina	—	5 h sotto ghiaccio
id.	39°	acida	+	acida	—	
36 h	40°	alcalina	++	alcalina	+	
id.	40°	acida	++	acida	+ >	

TABELLA VII. — L

Numero d'ordine	DATA	Epoca del parto	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Reazione dell' albumina solubile	Quantità aggiunta di soluzione di Potassa	Quantità aggiunta di soluzione di Acido cloridrico
1	30 giugno 1901 . .	21 giorni	5 cmc.	—	+	1 cmc.	..
2	Id. . .	id.	id.	—	+	..	1 cmc.
3	3 luglio 1901 . .	24 giorni	id.	+ (stafilococchi	—	1 cmc.	..
4	Id. . .	id.	id.	..	—	..	1 cmc.
5	6 luglio 1901 . .	27 giorni	id.	..	+	2 cmc.	..
6	Id. . .	id.	id.	..	+	..	1 cmc.
7	8 luglio 1901 . .	29 giorni	id.	+	—	2 cmc.	..
8	Id. . .	id.	id.	+	—	..	1 cmc.
9	10 luglio 1901 . .	31 giorni	id.	—	+	2 cmc.	..
10	Id. . .	id.	id.	—	+	..	1 cmc.
11	12 luglio 1901 . .	33 giorni	id.	..	+	2 cmc.	..
12	Id. . .	id.	id.	..	+	..	1 cmc.
13	6 agosto 1901 . .	10 giorni	id.	+ (sarcina)	—	2 cmc.	.
14	Id. . .	id.	id.	id.	—	..	1 cmc.
15	8 agosto 1901 . .	12 giorni	id.	+	+	3 cmc.	..
16	Id. . .	id.	id.	+	+	..	1 cmc.
17	12 agosto 1901 . .	16 giorni	id.	..	—	4 cmc.	..
18	Id. . .	id.	id.	..	—	..	1 cmc.

NB. — Il latte per questa serie di esperienze è stato fornito da due cagne.

…agna omnivora.

Durata della permanenza in termostato	Temperatura	Reazione dell'albumina solubile				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte		Reazione del latte		
24 h	39°	acida	++	neutra	+	
id.	39°	acida	++	acida	+ >	
28 h	39°	neutra	++	neutra	—	
id.	39°	acida	+	acida	+	
20 h	40°	alcalina	++	alcalina	+	6 h sotto ghiaccio
id.	40°	acida	++	acida	+ >	
18 h	40°	alcalina	+++	alcalina	—	
id.	40°	acida	+++	acida	+	
22 h	39°	alcalina	+++	alcalina	—	8 h sotto ghiaccio
id.	39°	acida	+++	acida	+ >	
26 h	39°	alcalina	+++	alcalina	+	
id.	39°	acida	++	acida	+	
36 h	38°	acida	+++	alcalina	—	3 h sotto ghiaccio
id.	38°	acida	+++	acida	+	
22 h	39°	neutra	+++	alcalina	+	
id.	39°	acida	++	acida	+ >	
36 h	40°	neutra	+++	alcalina	—	4 h sotto ghiaccio
id.	40°	acida	+	acida	—	

TABELLA VIII.

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Reazione dell' albuminà solubile	Quantità aggiunta di soluzione di	
					Potassa	Acido cloridrico
1	6 luglio 1901	5 cmc.	—	+	1 cmc.	..
2	Id.	id.	—	+	..	1 cmc.
3	11 luglio 1901	id.	..	+	2 cmc.	..
4	Id.	id.	..	+	..	1 cmc.
5	20 luglio 1901	id.	—	—	2 cmc.	..
6	Id.	id.	—	—	..	1 cmc.
7	28 luglio 1901	id.	—	+	3 cmc.	..
8	Id.	id.	—	+	..	1 cmc.
9	2 agosto 1901	id.	..	+	2 cmc.	..
10	Id.	id.	..	+	..	1 cmc.
11	5 agosto 1901	id.	—	+	2 cmc.	..
12	Id.	id.	—	+	..	1 cmc.

NB. — Il latte adoperato per queste ricerche proveniva da asine diverse.

…te di asina.

Durata della …rmanenza in …rmostato	Temperatura	Reazione dell'albumina solubile				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte		Reazione del latte		
26 h	40°	neutra	++	alcalina	+	
id.	40°	acida	++	acida	+>	
30 h	40°	alcalina	+++	alcalina	+	
id.	40°	acida	++	acida	+	
20 h	39°	alcalina	++	alcalina	—	
id.	39°	acida	+	acida	+	
22 h	38°	alcalina	++	alcalina	+	6 h sotto ghiaccio.
id.	38°	acida	++	acida	+>	
25 h	39°	alcalina	++	alcalina	—	
id.	39°	acida	+	acida	+>	
24 h	40°	alcalina	++	alcalina	+	5 h sotto ghiaccio.
id.	40°	acida	++	acida	+	

TABELLA IX

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Reazione dell' albumina solubile	Quantità aggiunta di soluz[illegible] di	
					Potassa	Acido cloridrico
1	16 luglio 1901	5 cmc.	—	+	1 cmc.	..
2	Id.	id.	—	+	..	1 cmc.
3	19 luglio 1901	id.	..	—	2 cmc.	..
4	Id.	id.	..	—	..	1 cmc.
5	22 luglio 1901	id.	—	+	2 cmc.	..
6	Id.	id.	—	+	..	1 cmc.
7	26 luglio 1901	id.	—	+	3 cmc.	..
8	Id.	id.	—	+	..	1 cmc.
9	2 agosto 1901	id.	..	+	2 cmc.	.
10	Id.	id.	..	+	..	1 cmc.
11	10 agosto 1901	id.	+ (stafilococchi)	+	3 cmc.	..
12	Id.	id.	id.	+	..	1 cmc.
13	14 agosto 1901	id.	—	+	4 cmc.	..
14	Id.	id.	—	+	..	1 cmc.
15	20 agosto 1901	id.	..	+	3 cmc.	..
16	Id.	id.	..	+	..	1 [illegible]
17	27 agosto 1901	id.	—	+	4 cmc.	..
18	Id.	id.	—	+	..	[illegible]

NB. — Il latte è stato fornito da più vacche.

e di vacca.

Durata della rmanenza :n rmostato	Tempe- ratura	Reazione dell'albumina solubile				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte		Reazione del latte		
26 h	39°	acida	+++	acida	+	
id.	39°	acida	+++	acida	++	
20 h	39°	neutra	+++	neutra	—	2 h sotto ghiaccio
id.	39°	acida	+++	acida	+	
25 h	40°	neutra	+++	neutra	+	
id.	40°	acida	+++	acida	—	
28 h	38°	alcalina	+++	alcalina	+	
id.	38°	acida	++	acida	++	
48 h	40°	acida	+++	acida	+	
id.	40°	acida	+++	acida	+ >	
32 h	39°	alcalina	+++	alcalina	+	9 h sotto ghiaccio
id.	39°	acida	+++	acida	+ >	
44 h	40°	alcalina	+++	alcalina	—	3 h sotto ghiaccio
id.	40°	acida	+++	acida	+ >	
18 h	39°	alcalina	+++	alcalina	+	
id.	39°	acida	+++	acida	+	
28 h	39°	alcalina	+++	alcalina	+	
id.	39°	acida	+++	acida	+ >	

TABELLA X.

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Reazione dell' albumina solubile	Quantità aggiunta di soluzione di	
					Potassa	Acido cloridrico
1	4 luglio 1901	5 cmc.	—	—	1 cmc.	..
2	Id.	id.	—	—	..	1 cm
3	6 luglio 1901	id.	..	+	1 cmc.	..
4	Id.	id.	..	+	..	1 cm
5	10 luglio 1901	id.	—	—	2 cmc.	..
6	Id.	id.	—	—	..	1 cm
7	13 luglio 1901	id.	—	+	2 cmc.	..
8	Id.	id.	—	+	..	1 cm
9	17 luglio 1901	id.	+ (b. coli)	..	..	..
10	19 luglio 1601	id.	—	—	2 cmc.	..
11	Id.	id.	—	—	..	1 cm
12	22 luglio 1901	id.	..	+	2 cmc.	..
13	Id.	id.	.	+	.	1 cm
14	4 agosto 1901	id.	+ (sarcina)	+	2 cmc.	.
15	Id.	id.	id.	+	..	1 cm
16	7 agosto 1901	id.	—	—	2 cmc.	..
17	Id.	id.	—	—	..	1 cm
18	14 agosto 1901	id.	..	—	3 cmc.	..
19	Id.	id.	..	—	..	1 cm

NB. — Il latte proveniva da capre diverse.

te di capra.

Durata della rmanenza in ermostato	Tempe-ratura	Reazione dell'albumina solubile				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte		Reazione del latte		
24 h	38°	neutra	++	alcalina	—	
id.	38°	acida	++	acida	+	
18 h	39°	alcalina	++	alcalina	—	
id.	39°	acida	++	acida	+>	
30 h	38°	alcalina	++	alcalina	—	
id.	38°	acida	++	acida	++	
20 h	40°	alcalina	+++	alcalina	+	8 h sotto ghiaccio.
id.	40°	acida	++	acida	+>	
..	..	..	..	..	..	
32 h	39°	alcalina	+	alcalina	—	
id.	39°	acida	+	acida	—	
28 h	38°	alcalina	+++	alcalina	+	
id.	38°	acida	++	acida	+>	
23 h	39°	alcalina	+++	alcalina	+	2 h sotto ghiaccio.
id.	39°	acida	+>	acida	+	
26 h	40°	alcalina	++	alcalina	—	4 h sotto ghiaccio.
id.	40°	acida	++	acida	+	
48 h	40°	acida	+++	alcalina	—	
id.	40°	acida	+++	acida	+	

Prima di trarre le conclusioni delle ricerche ora riferite conviene fare ancora qualche osservazione, acciò le conclusioni stesse possano riuscire di una assoluta attendibilità.

Accennerò intanto che io nelle precedenti tabelle a cagione di brevità non ho riferito tutte e singole le esperienze da me fatte per la ricerca del fermento proteolitico nel latte, ma solo un dato numero di esse; del resto anche tutte le altre hanno sempre dato lo stesso risultato.

Per altro credo utile il riferire che in quei casi in cui, invece della reazione del biurete ci siamo serviti del reattivo Tanret il precipitato che si formava più o meno abbondante a seconda dei casi era poi dal calore sempre disciolto e completamente, fatta però eccezione (almeno così si può dire in via generale) per le prove eseguite sul latte di vacca, nelle quali quasi sempre (in special modo per le ricerche instituite alla dimostrazione del fermento tripsinico - ambiente alcalino -) il precipitato essendo abbondantissimo non completamente veniva disciolto dal calore, ma solo in grandissima parte.

E per allontanare anche il semplice sospetto che il reattivo Tauret da me spesse volte adoperato in queste ricerche non corrispondesse esattamente allo scopo (anche senza tenere conto del fatto che i risultati ottenuti colla reazione del biurete sono stati pienamente concordi con essi), feci anche da principio di questi studi delle prove di confronto in bianco con la soluzione di potassa e caffeina più Tanret; con latte appena munto, più soluzione di potassa e caffeina, eppoi dopo precipitate le sostanze albuminoidi prova di Tanret, le quali mi convinsero che il procedimento adottato era buono. Da ultimo dirò ancora che contemporaneamente a questo metodo per la ricerca del fermento tripsinico e pepsinsico nel latte volli tentare anche il metodo proposto dal Fermi (11°) per la ricerca delle tripsine batteriche, metodo che. secondo l'autore, serve a svelare la presenza dei fermenti proteolitici anche in minime tracce. Non occorre che io stia qui a descrivere minutamente in che consiste tale metodo potendo ognuno leggere la descrizione originale; dirò soltanto che essa è fondata sul fatto della fluidificazione di una gelatina speciale per opera di fermenti proteolitici.

Basta lasciare la provetta contenente tale gelatina e nel caso nostro coll'aggiunta del latte da esaminare alla temperatura dell'ambiente ed osservare colla scala millimetrica di quanto progredisce giornalmente o durante settimane la fluidificazione della gelatina. Per altro in tale modo non si ha davvero la temperatura optimum richiesta per fare esplicare l'azione dei fermenti che si ricercano, e quindi converrà anche fare delle esperienze mettendo tali tubicini alla stufa alla temperatura di 38°, e così tanto più sicuramente si otterrebbe un risultato in specie se il fermento è in poca quantià e poco energico. In tali casi basta poi verificare se le provette di gelatina, in cui si suppone vi sia il formento, poste in ghiacciaia rimangono liquide, e fino a qual punto, mentre i tubi di controllo si solidificano.

È evidente che questo metodo oltre che per un'analisi qualitativa potrebbe, volendo, servire anche per ricerche quantitative cioè per paragonare le diverse energie dei vari fermenti e nel caso nostro dei vari latti; a tale uopo basta, date le stesse condizioni di esperienza, misurare esattamente la fluidificazione della colonna di gelatina. A causa di brevità dirò solamente che le ricerche da me eseguite col latte di donna e dei diversi animali col metodo di Fermi non sono riuscite dimostrative in senso assoluto, come le altre riferite nelle tabelle; nè ciò deve arrecare meraviglia dopo le osservazioni fatte in principio a proposito del metodo primitivamente tentato per la ricerca di tali fermenti (grumo di fibrina).

Orbene da tutte queste ricerche si può evidentemente trarre la conclusione generale che tanto il fermento tripsinico che il pepsinico si riscontra sempre attivo nel latte di tutti gli animali compresa la donna, e che inoltre sempre in modo più energico dimostra la propria azione il fermento tripsinico a confronto di quelle pepsinico molto più debole.

Facendo un parallelo della varia energia di questi fermenti nei diversi latti risulta chiaro che essa è maggiore nel latte di vacca, poi come intensità segue subito appresso il latte di cagna, eppoi quello di capra dai quali ultimi si discosta il latte di donna, ed infine viene quello di asina.

Per altro, come si può vedere dalle singole tabelle, tali differenze nei vari latti per riguardo a questi fermenti non sono assolute, come pel fermento amilolitico, ma si presentano come in una scala gradualmente discendente a capo della quale sta il latte di vacca ed in ultimo quello di asina, pure conservando sempre lo stesso carattere cioè della maggiore energia del fermento tripsinico a confronto di quello pepsinico. Inoltre dall'esame delle tabelle risulta l'altro fatto interessante che assai spesso il latte anche appena munto dà la reazione dell'albumina solubile sebbene in leggera quantità. Ora tale fatto non può infirmare i risultati positivi ottenuti in queste ricerche, nè renderli meno attendibili come a prima vista sembrerebbe. Imperocchè la spiegazione di tale fatto non mi sembra tanto difficile a trovarla. Ed invero le esperienze riferite nelle singole tabelle ci dicono che tale reazione dell'albumina solubile nel latte appena munto si è riscontrata costantemente nel latte di vacca e pressochè sempre nel latte di asina, abbastanza spesso nel latte di capra e di cagna e raramente invece nel latte di donna.

Ora tuttociò deve evidentemente stare in rapporto coll'epoca della mungitura del latte; in quanto che siccome le vacche, le capre e le asine (almeno qui da noi) si mungono due sole volte al giorno e per nessuna ragione all'infuori delle ore stabilite, così anch'io in

generale sono stato costretto a prendere il latte per queste mie ricerche durante quest'orario. Orbene, tale latte sta di fatto nelle mammelle dell'animale per varie ore ed in condizioni abbastanza favorevoli perchè tali fermenti proteolitici possano esplicare la loro azione, quindi nessuna meraviglia che in parte ciò si verifichi. E del resto pel latte di donna, in cui evidentemente non si avvera un tanto lungo ristagno di latte nelle mammelle, non si rinviene pure che raramente la reazione caratteristica dell'albumina solubile nel latte appena raccolto. Anche nel latte di cagna, come risulta dalle tabelle, tale reazione è stata positiva abbastanza spesso, ma conviene notare che per ragione di opportunità (affine cioè di ricavare una discreta quantità di latte) anche le cagne venivano da me munte ad ora stabilita. E che ciò ammettendo io sia quasi certamente nel vero, lo dimostra il fatto che talune volte col latte di capra e di cagna (animali che potevo avere anche a mia disposizione e quindi mungere a piacere) tale reazione non si è verificata ed appunto ciò avveniva quando il latte non si raccoglieva ad ora fissa.

Infine conviene riflettere che una tale probabile azione esercitata dal fermento proteolitico sul latte mentre ancora si trova raccolto nelle mammelle, a causa del troppo lungo ristagno che si produce artificialmente, dovrà anche verificarsi per altri fermenti ed in specie per quello lipolitico e glucolitico.

Come si vede poi il latte bollito messo in ambiente alcalino non ha presentato mai la reazione dell'albumina solubile, almeno che essa già non esistesse nel latte appena munto, nel quale caso si è mantenuta della stessa intensità; invece se al latte bollito si era aggiunta la soluzione di acido cloridrico la reazione non solo è stata sempre positiva, ma in via generale sempre un pochino più spiccata di quella che si era avuta colla così detta prova in bianco. E (come assai facilmente si comprende) le tabelle hanno anche dimostrato che per rendere alcalino l'ambiente, in cui si doveva trovare il latte da sperimentare, il massimo dell'aggiunta della soluzione alcalina è stato necessario pel latte di vacca e cagna ed il minimo pel latte di donna.

Inoltre è risultato che la vitalità di questi fermenti non rimane in alcun modo danneggiata dall'azione delle basse temperature (ghiaccio), anche durante molte ore, e che il loro potere funzionale si esplica bene alla temperatura di + 38° — 40° centigradi per un tempo variabile dalle 18-20^h in poi, ed in via generale tanto più lunga è la permanenza in termostato del latte da esaminare e tanto più intensa è la reazione che ne risulta.

In pari tempo si è potuto constatare che non esistono differenze, almeno apprezzabili dalle ricerche eseguite, per riguardo all'energia funzionale di tali fermenti in rapporto coll'epoca dell'avvenuto parto (donna-cagna).

Una volta dimostrata l'esistenza di questi due fermenti nei vari latti non sarà poi difficilissimo, come già si è fatto per quello amilolitico, dosarne il loro potere funzionale a seconda della loro diversa provenienza, basandosi sempre sul principio da me adottato per la ricerca dei medesimi, salvo naturalmente a variare la seconda parte della tecnica. Giacchè è evidente che a tale scopo occorrerà fare il dosaggio dei peptoni, dosaggio che si può ottenere in modo sicuro colla valutazione dell'azoto (1 gr. di azoto = gr. 6,25 di peptoni) col metodo di Kyeldal, ma allora non si potrà certo servirsi nè del solfato di ammonio per separare i peptoni dalle altre sostanze albuminoidi non digerite, nè del polarimetro, giacchè il dosaggio polarimetrico non è confacente al caso speciale perchè vi possono figurare sostanze (prodotti della digestione) che deviano in grado diverso la luce polarizzata; e quindi credo sia più conveniente attenersi al metodo, già adoperato dallo Jemma (12) appunto pel dosaggio dei peptoni nella digestione artificiale del latte. Per altro io debbo aggiungere che non posso qui riferire i risultati di ricerche instituite a questo scopo, perchè esse sono ancora in troppo poco numero da poterci autorizzare a trarne delle conclusioni.

γ) — *Fermento idratante* (reazione del salolo).

Questo è fino ad ora il fermento solubile del latte meglio conosciuto dopo gli studi che si possono dire completi del Nobécourt e del Merklen su latte dei vari animali tenuti in condizioni normali. Per cui una serie di esperienze così minuziose come le precedenti si rendeva pressochè inutile il ripeterle; pur tuttavia mi è stato necessario in parte ritentarle, almeno per ciò che riguardava l'analisi qualitativa, avuto specialmente riguardo alle altre parti del lavoro che avevo in animo di fare.

Non occorre pertanto che io stia qui a riferire il procedimento adottato per la ricerca di tale fermento idratante. Esso è identico a quello del Nobécourt e Merklen e fondato sul fatto che il salolo per opera di tale fermento si sdoppia in fenolo ed acido salicilico, il quale ultimo è facilmente dimostrabile con più reazioni chimiche, tra le quali accennerò alla più comune, quella col percloruro di ferro.

La tecnica è semplicissima: si mescola il latte da esaminare con una data quantità di salolo, indi si mette alla stufa ad una data temperatura e dopo trascorso il tempo stabilito si saggia il latte per vedere se la reazione è avvenuta. Non è difficile in questo studio dosare anche l'energia di tale fermento; basta a tale scopo dosare la quantità di acido salicilico che nelle identiche condizioni di esperimento si è formato nelle stesse unità di tempo nei vari latti, dosaggio che si può eseguire basandosi sul procedimento colorimetrico. Il latte da me esaminato durante questa serie di esperienze proveniva come al solito da donne, vacche, capre, cagne ed asine, tenuti però tutti al loro vitto abituale.

Ed ora, dovrei qui trascrivere senz'altro i numerosi esami di latte fatti per la ricerca di tale fermento nei vari animali. Per altro non credo sia tutto questo di una necessità assoluta, come poteva dirsi per gli altri avanti riferiti, giacchè tali esami in definitiva non dimostrano nulla di molto importante che già non sia stato detto dal Nobécourt e Merklen nei loro studi, tanto più poi che io in questa serie di ricerche mi sono sempre limitato a fare l'analisi qualitativa del fermento. Per cui il lettore può, anche senza la scorta di queste tabelle, comprendere esattamente le seguenti conclusioni a cui sono giunto con tali ricerche.

Esse sono state pienamente concordi con quelle ottenute dal Nobécourt e Merklen. Difatti da questi studi è risultato che tale fermento idratante il salolo che si contiene nel latte, procede di pari passo con quello amilolitico (il quale ultimo del resto appartiene lo stesso alla categoria dei fermenti idratanti); difatti esso si riscontra sempre attivo nel latte di donna e con lieve differenza anche nel latte di cagna: si può inoltre affermare che è molto frequente anche nel latte di asina, sebbene in questo caso si dimostri sempre dotato di molta minore energia, ed infine è assolutamente e sempre mancante nel latte di vacca e di capra. Inoltre ci siamo potuti convincere che il suo potere funzionale si esplica discretamente anche alla temperatura dell'ambiente (+ 20°) raggiungendo l'optimum tra i + 37° e + 39° per un periodo di tempo che varia da un minimo di poche ore (3-4) senza un massimo bene stabilito, e solamente si può dire che tanto più esso è dotato di un alto potere funzionale e tanto meno tempo occorre perchè esso possa esplicare la sua azione sul salolo, e difatti nella stessa unità di tempo il latte di donna è quello che, nelle identiche condizioni di esperimento, dà la reazione più spiccata a confronto del latte di cagna e di asina. In pari tempo abbiamo anche noi potuto constatare che una reazione sensibilmente acida dell'ambiente ritarda di molto fino anche ad impedire l'azione del fermento; tanto è vero che, aggiungendo una sola goccia di acido acetico a 5 cmc. di latte di donna o di cagna, la reazione dell'acido salicilico non si ottiene dopo 24 ore; mentre al contrario alcalinizzando leggermente il latte di cagna la reazione si fa più intensa a

confronto delle altre volte. Così anche si è potuto osservare che non esistono differenze rilevabili, almeno con questi nostri mezzi di esame, per riguardo all'energia funzionale di tale fermento in rapporto coll'epoca dell'avvenuto parto (donna, capra), ciò che sta d'accordo coi risultati notati in precedenza a proposito degli altri fermenti.

i) — *Fermento ossidante.*

Le ossidasi sono assai sparse nel mondo organico, e sono oramai conosciutissime quelle del regno vegetale specialmente avuto riguardo a quelle dell'industria. Abelous e Biarnes furono i primi a rendere nota l'esistenza delle ossidasi nel regno animale, giacchè dimostrarono con numerose esperienze che gli estratti di molti organi o tessuti animali godono di un potere ossidante manifesto a contatto dell'aldeida salicilica, ed inoltre fecero vedere che anche il sangue contiene delle ossidasi (certamente legate all'emoglobina) per quanto in grado minore dei tessuti.

Le ricerche di tale fermento nel latte si devono al Marfan (8), come sopra abbiamo detto, il quale basandosi forse in parte su quanto già si conosceva sul conto di questi ossidasi animali (cui noi in compendio abbiamo ora accennato) e più che altro basandosi sul fatto già noto che il latte di vacca crudo colora in bleu la tintura vecchia di guaiaco e che questa proprietà scompare nel latte cotto, è venuto alla conclusione che il latte di vacca contiene una materia ossidante, appartenente al gruppo dei fermenti solubili. Il Marfan del resto ha studiato l'azione di tale fermento nel latte e si è potuto convincere che in realtà esso esiste sempre attivissimo nel latte di vacca, mentre è appena sensibile nel latte di madre, ove talune volte manca. Questi sono gli studi fino ad ora noti dei fermenti ossidanti contenuti nel latte. A me è sembrato quindi non privo di un certo interesse ripetere avanti tutte queste ricerche per completarle poi e confrontarle con quelle sui latti degli altri animali non ancora studiati (capra, asina, cagna).

La tecnica adottata per questi esami (lasciando da parte la questione dell'asepsi) è stata abbastanza semplice. Essa è fondata sul fatto noto già da grandissimo tempo e cioè che la tintura di guaiaco si colora in bleu in presenza d'aria e sotto l'azione di certi corpi (acidi, gomme, farine, ecc.) e anche di ossidanti come il cloro, lo iodio, nonchè sull'altro fatto che con tale mezzo si può riconoscere il latte crudo da quello cotto. Quindi nel caso nostro speciale bastava aggiungere della tintura di guaiaco ad una data quantità di latte da esaminare, indi mettere alla stufa il tubetto da saggio contenente tale latte a quella temperatura a cui si vuole sperimentare, e dopo trascorso un determinato tempo osservare se la reazione è avvenuta. In tal modo, come è evidente, si fanno le prove qualitative del fermento, che si

ricerca, pur tuttavia possono anche eseguirsi ricerche quantitative abbastanza approssimative per dosare l'energia di tale fermento basandosi sulla diversa colorazione, che si ottiene dalla tintura di guaiaco nelle identiche condizioni di esperimento e nelle stesse unità di tempo coi vari latti studiati E di fatti fondandosi esclusivamente sul potere colorimetrico della reazione il Laborde ha fatto delle ricerche quantitative di tale fermento a proposito dello studio di certi ossidasi dei vini; esso per misurare la quantità dell'ossidasi presente usò al solito la reazione bleu della tintura di guaiaco e come unità colorimetrica il colore provocato in 20 cmc. di tintura da mmg. 0.5 di iodio. Io per altro debbo dire che in questo studio mi sono limitato a ricerche più che altro qualitative ed ad un dosaggio grossolano del potere del fermento ossidante nei vari latti, giacchè ho eseguito il metodo di confronto semplice della reazione, che si produceva coi latti studiati a seconda della loro diversa provenienza (donna, cagna, asina, vacca, capra, tutti tenuti al loro vitto abituale).

Da queste ricerche sono giunto alla conclusione generale che il fermento ossidante, che si rinviene nel latte si comporta in genere in modo quasi inverso ai due fermenti idratanti (dell'amido e del salolo) precedentemente studiati, in quanto che mentre esso è attivissimo nel latte di vacca ed un poco meno in quello di capra, invece è pochissimo manifesto nel latte di donna e di cagna, mentre il latte di asina tiene come al solito una via di mezzo. Anzi talune volte è tanto lieve e delicata la reazione che si può riscontrare in specie nel latte di donna colla tintura vecchia di guaiaco in presenza sempre di acqua ossigènata, da fare credere che assolutamente tale fermento in qualche caso faccia difetto: ma veramente nei latti da noi esaminati, salvo due volte, ci è stato dato di poterla sempre riscontrare. Ed a proposito di tale reazione debbo dire che le mie osservazioni sono state pienamente concordi con quelle già notate dal Marfan e cioè che se per le ricerche si impiegava una tintura vecchia di guaiaco allora il latte di vacca la colorava abbastanza presto ed intensamente in bleu, mentre che se la tintura era fresca allora la reazione non appariva che in minime tracce. e solo si rendeva manifesta dietro l'aggiunta di qualche goccia di acqua ossigenata. Inoltre debbo aggiungere a tale riguardo che talune volte col latte di asina, e addirittura sempre col latte di donna e di cagna l'aggiunta di acqua ossigenata era necessaria e condizione *sine qua non* perchè la reazione si avverasse anche in minime tracce benchè colla tintura vecchia di guaiaco.

È evidente poi che col latte ad esempio di vacca, ove tale fermento ossidante è dotato di un alto potere funzionale, occorrerà molto minore tempo che col latte di asina o di madre perchè la reazione bleu della tintura di guaiaco si renda manifesta. Per ciò

che si riferisce al comportamento di tale fermento riguardo all'azione delle basse temperature, della bollitura del latte, e della temperatura optimum per la sua azione vale tutto quello riferito in precedenza a proposito degli altri fermenti.

ε) *Fermento lipolitico.*

Noi già sappiamo che la lipasi si trova tanto nel regno animale che in quello vegetale. L'Hanriot ha dimostrato che nell'organismo animale essa si trova abbondante nel pancreas, nel fegato e nel siero sanguigno: è scarsa invece nei muscoli, nella tiroide, nella milza, nelle capsule surrenali, nei testicoli, nell'urina e nella linfa.

Il Green ed il Siegmund hanno constatato che essa si rinviene nei semi di ricino in germinazione, di colza, papavero, lino, canepa, granturco; il Gerard ed il Camus la ritrovarono nelle muffe, ed infine il Sommaruga vide che esiste una serie di microrganismi, che usano la glicerina come materiale nutritivo, capaci di saponificare i grassi.

L'azione della lipasi consiste in una saponificazione, provocata cioè da un'idratazione per cui i grassi neutri si sdoppiano in acido grasso e glicerina: e poichè i grassi neutri non sono solubili nei liquidi organici mentre sono tali e la glicerina e l'acido grasso, da qui la ragione di essere della lipasi che è appunto quella di rendere i grassi solubili. Si comprende quindi l'importanza di essa nell'economia animale.

Marfan e Gillet sono stati i primi a ricercare la lipasi nel latte di donna e di vacca, concludendo che mentre essa è molto attiva nel latte di donna, è invece poco energica nel latte di vacca. Questi autori non hanno pubblicato ancora per intiero la loro memoria in proposito; per altro essi dicono di avere adottato il metodo di Hanriot (13) per la ricerca della lipasi nel latte. Difatti Hanriot e Camus per studiare le proprietà della lipasi in generale hanno fatto agire del siero di cavallo sopra un grasso solubile, la butirrina, eppoi ne hanno misurato l'azione con dosaggi acidi-metrici. Ma un tale metodo a me sembra non sia applicabile per lo studio della lipasi nel latte; giacchè è evidente che deve condurre a risultati tutt'altro che attendibili. Infatti è risaputo come il latte essendo il migliore dei terreni nutritivi pei germi in genere, subisce dopo qualche tempo la fermentazione acida: e quindi l'aumento dell'acidità nella miscela di latte e grasso neutro può dipendere almeno in parte da questo fatto e non dalla scissione del grasso neutro per opera della lipasi. Per conseguenza tale aumento di acidità si sarebbe dovuto attribuire più che altro all'azione dei germi, che si

trovano sospesi nell'aria, capacissimi di provocare la fermentazione acida, ed i quali per quante cautele si adoperino è assai facile che possano cadere nei tubicini da saggio. Allora ho messo in pratica il seguente metodo, escogitato già dal Luzzati e Biolchini, il quale mi forniva senza dubbio alcune maggiori garanzie di attendibilità.

Seguendo sempre il consiglio di Hanriot, mi sono giovato, quale grasso da fare digerire dal fermento lipolitico, della monobutirrina neutra, la quale ha il vantaggio rispetto agli altri grassi di essere facilmente solubile, e di potersi quindi intimamente mescolare col latte. Per effetto della lipasi la monobutirrina si scinde in glicerina ed acido monobutirrico, il quale è volatile e solubilissimo in acqua, cosicchè per mezzo di una semplice distillazione col vapore d'acqua della miscela di latte e grasso è facile ottenere tutto l'acido grasso, che vi si trova libero in soluzione acquosa. Si poteva d'altra parte stare sicuri che tutta l'acidità del distillato della miscela di latte e monobutirrina era dovuta all'acido monobutirrico scisso; giacchè precedentemente il Luzzatti ed il Biolchini nello sperimentare tale metodo, con alcune prove in bianco, avevano stabilito che per effetto della semplice distillazione del grasso neutro non aveva luogo una scomposizione di questa, e che per la distillazione del solo latte spontaneamente acidificato non si aveva passaggio di acido nel distillato.

Del resto, mentre tale metodo ci faceva evitare il grave errore in cui certamente si incorreva usando il metodo puro e semplice di Hanriot per queste ricerche nel latte; d'altra parte dobbiamo convenire che anch'esso non è completamente esatto, potendosi a suo carico sollevare la stessa obbiezione che più tardi noteremo a proposito del metodo adottato per la ricerca del fermento amilolitico. Anche lì abbiamo visto che noi aggiungevamo amido eppoi determinavamo lo zuccaro prodotto per stabilire la presenza e l'energia del fermento amilolitico; d'altra parte le ricerche sul fermento glucolitico ci proveranno che tale metodo non era veramente esatto, in quanto che le determinazioni dello zuccaro nello studiare l'amilasi dovevano essere sempre inferiori al vero di tanto almeno di quanto ne veniva contemporaneamente distrutto dalla diastasi glucolitica. Orbene anche nel caso della lipasi si verificherà con molta probabilità un inconveniente simile: cioè noi aggiungiamo la monobutirrina neutra al latte per studiare la presenza e l'energia della diastasi lipolitica, che si suppone esistere nel latte in esame, eppoi in base al dosaggio dell'acido monobutirrico prodotto stabiliamo tali caratteri della lipasi. Ora il fermento lipolitico oltre che agire sulla monobutirrina aggiunta non potrà forse agire anche sul grasso del latte stesso saponificandolo? Allora quest'azione ci sfuggirà coi nostri mezzi di indagine e quindi i risultati da noi ottenuti saranno sempre inferiori al vero. Difatti basandoci sui risultati delle esperienze precedenti dobbiamo ritenere che quasi certamente così av-

verrà; ma del resto anche ciò ammettendo il metodo da noi adoperato, avendo lo scopo di comparare tra loro l'azione dei diversi latti animali, dobbiamo ritenerlo per buono, come del resto tale rimane quello adottato per la ricerca dell'amilasi, non ostante le osservazioni che si possono fare in proposito.

Ecco come ho praticato le esperienze in questa serie di ricerche.

Seguendo sempre tutte le regole dell'asepsi prendevo 10 cmc. di latte entro una provetta sterilizzata, vi aggiungevo mezzo cmc. di monobutirrina, mescolavo il tutto bene bene e lo ponevo in termostato. Contemporaneamente, come controprova, preparavo allo stesso modo un'altra provetta però con latte bollito. Dopo trascorso il tempo stabilito versavo tale miscela in un matraccio, lavando perfettamente con acqua distillata la provetta, e ponevo il tutto a distillare nel modo seguente: facevo cioè pervenire dei vapori di acqua bollente nel matraccio contenente la miscela di latte e monobutirrina, allora l'acido monobutirrico che vi si fosse trovato, siccome è volatile e solubile in acqua, veniva sicuramente trasportato nel distillato, il quale veniva raccolto in un bicchiere contenente acqua distillata. È naturale che la distillazione si continuava fino a tanto che il distillato non reagiva più acido. Sul distillato poi non rimaneva che determinare l'acidità servendosi di una soluzione N/10 di potassa ed a seconda della quantità maggiore o minore di potassa che occorreva per neutralizzare il distillato, se ne conchiudeva per la presenza non solo del fermento lipolitico, ma anche per la sua energia.

Sara utile trascrivere nelle seguenti tabelle i risultati ottenuti.

Tabella XI. —

Numero d'ordine	DATA	Epoca del parto	Quantità di latte adoperato	Esame culturale
1	3 agosto 1901	3 mesi	10 cmc.	—
2	7 agosto 1901	40 giorni	id.	..
3	10 agosto 1901	5 mesi	id.	—
4	18 agosto 1901	10 mesi	id.	—

Tabella XII. — *Lat*

Numero d'ordine	DATA	Epoca del parto	Quantità di latte adoperato	Esame culturale
1	2 luglio 1901	23 giorni	10 cmc.	—
2	7 luglio 1901	28 giorni	id.	..
3	3 agosto 1901	14 giorni	id.	+ [illegible]

NB. — Il latte è stato fornito da due cagne.

atte di donna.

Quantità di monobutirrina aggiunta	Durata della permanenza in termostato	Temperatura	Quantità di KOH N/10 occorsa per neutralizzare l'acidità svoltasi nel Latte crudo	Latte cotto	Osservazioni
1/2 cmc.	24 h	39°	5. 14	0. 10 (?)	
1/2 cmc.	30 h	40°	6. 22	0. 04	4 h sotto ghiaccio.
1/2 cmc.	28 h	40°	4. 96	..	
1/2 cmc	36 h	40°	7 20	0. 02	6 h sotto ghiaccio.

'i cagna omnivora.

Quantità di monobutirrina aggiunta	Durata della permanenza in termostato	Temperatura	Quantità di KOH N/10 occorsa per neutralizzare l'acidità svoltasi nel Latte crudo	Latte cotto	Osservazioni
1/2 cmc.	24 h	39°	3 50	0. 02	2 h sotto ghiaccio.
1/2 cmc	32 h	40°	4. 04	..	
1/2 cmc.	30 h	40°	3. 92	0. 00	

TABELLA XIII.

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale
1	16 luglio 1901	10 cmc.	—
2	25 luglio 1901	10 cmc.	—
3	3 agosto 1901	10 cmc.	..

NB. — Il latte proveniva da asine diverse.

TABELLA XIV.

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale
1	10 luglio 1901	10 cmc.	—
2	15 luglio 1901	10 cmc.	..
3	25 luglio 1901	10 cmc.	—
4	4 agosto 1901	10 cmc.	—

NB. — Il latte è stato fornito da più vacche.

TABELLA XV.

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale
1	21 luglio 1901	10 cmc.	—
2	30 luglio 1901	10 cmc.	+ (stafilococchi)
3	10 agosto 1901	10 cmc.	—

NB. — Il latte era di capre diverse.

Latte di asina.

Quantità di monobutirrina aggiunta	Durata della permanenza in termostato	Temperatura	Quantità di KOH N/10 occorsa per neutralizzare l'acidità svoltasi nel		Osservazioni
			Latte crudo	Latte cotto	
$^{1}/_{2}$ cmc.	24 h	39°	1.10	0 01	
$^{1}/_{2}$ cmc.	20 h	40°	0.80	0.02	
$^{1}/_{2}$ cmc.	30 h	40°	1.52	...	3 h sotto ghiaccio.

Latte di vacca.

Quantità di monobutirrina aggiunta	Durata della permanenza in termostato	Temperatura	Quantità di KOH N/10 occorsa per neutralizzare l'acidità svoltasi nel		Osservazioni
			Latte crudo	Latte cotto	
$^{1}/_{2}$ cmc.	20 h	40°	2.04	0 02	
$^{1}/_{2}$ cmc.	25 h	40°	1.90	..	3 h sotto ghiaccio.
$^{1}/_{2}$ cmc.	30 h	39°	3.08	0.05	4 h sotto ghiaccio.
$^{1}/_{2}$ cmc.	24 h	39°	0.50 (?)	..	

Latte di capra.

Quantità di monobutirrina aggiunta	Durata della permanenza in termostato	Temperatura	Quantità di KOH N/10 occorsa per neutralizzare l'acidità svoltasi nel		Osservazioni
			Latte crudo	Latte cotto	
$^{1}/_{2}$ cmc.	20 h	39°	1.10	0.00	
$^{1}/_{2}$ cmc.	25 h	40°	0.92	..	
$^{1}/_{2}$ cmc.	30 h	40°	1.40	0.02	3 h sotto ghiaccio.

Dall'esame delle tabelle risulta evidente la conclusione che si deve trarre riguardo alla lipasi nel latte. Essa in via generale si rinviene in tutti i lati da me esaminati, con questa differenza però che mentre è molto attiva nel latte di donna, e discretamente nel latte di cagna, invece nel latte della vacca lo è molto meno (in grado inferiore della metà) di quello di donna, ed in quello di capra e di asina, che sotto questo rapporto quasi si eguagliano, lo è ancora in grado notevolmente inferiore.

Per ciò poi che riguarda le altre proprietà di questo fermento (temperatura *optimum* di azione, durata del tempo, epoca del parto, ebollizione del latte, azione del ghiaccio, ecc.), non occorre mi dilunghi in modo soverchio, giacchè esse sono risultate identiche a quelle degli altri fermenti fino ad ora studiati, ciò che del resto è assai facile verificare dietro una minuta osservazione delle ricerche riferite per esteso nelle tabelle.

Infine sarà utile anche riflettere che le cifre ottenute in questa serie di ricerche e riportate nelle singole tabelle indicanti il grado maggiore o minore dell'energia delle lipasi, a seconda dei vari latti dovranno con grande probabilità essere considerate non in modo assoluto ma soltanto relativo, giacchè la stessa osservazione fatta a proposito dello studio del fermento proteolitico dovrà ripetersi al riguardo di quello lipolitico, e cioè che esso possa cominciare ad esercitare la sua azione anche nel latte prima di essere munto per una soverchia ed eccessiva permanenza di esso nella ghiandola mammaria (ove si trova già in grande copia raccolto), che in tale caso funzionerebbe come di un grande serbatoio a termostato naturale; ed un bell'esempio di ciò potrebbe esserci fornito appunto dal latte di vacca.

ζ) *Fermento glucolitico.*

Esso fino ad ora non era stato mai studiato da altri nel latte. ma dopo quello che siamo venuti esponendo a proposito di tali fermenti, si rindeva necessaria anche tale ricerca, basandosi specialmente sopra due dati di fatto oramai noti:

1. La dimostrazione data dal Bernard, che la quantità di zucchero contenuto nel sangue animale appena estratto dai vasi diminuisce a poco a poco, fino ad annullarsi del tutto dopo un tempo abbastanza lungo (e ciò secondo il Lepine, sarebbe dato da una

diastasi segregata dai leucociti, i quali però soltanto ne sarebbero i depositari, in quanto che essa si formerebbe nel pancreas).

2. La dimostrazione ottenuta indirettamente dell'esistenza di tale fermento nel latte di capra e di vacca a proposito delle ricerche fatte pel fermento amilolitico, come fino da allora fu notato. Conveniva quindi, anche per illustrare meglio gli studi fatti intorno all'amilasi, intraprendere delle ricerche sistematiche a proposito della diastasi glucolitica, seguendo lo stesso procedimento fino ad ora adottato per gli altri fermenti.

La tecnica da seguirsi si presentava abbastanza facile; bastava cioè dosare la quantità di zucchero contenuto nel latte prima e dopo l'esperienza per dimostrare non solo la presenza del fermento, ma anche per dosarne la sua energia. A tale scopo due mezzi, ambedue esatti, avevo a mia disposizione: il reattivo del Fehling od il polarimetro. Quest'ultimo io ho preferito in questa serie di osservazioni a cagione della sua maggiore rapidità di esecuzione. Non occorre davvero che ora io descriva qui minutamente come si esegue il dosaggio dello zuccaro nel latte col polarimetro, giacchè ciò si rinviene nei trattati di chimica fisiologica: solo è necessario di essere molto esatti nell'eseguire tutti i dettagli di tecnica per non cadere in gravi errori. Ecco come io procedevo per tale studio: avanti tutto dosavo lo zuccaro contenuto nel latte da esaminare, appena munto, indi in una provetta da saggio sterilizzata ponevo 20-25 cmc. dello stesso latte, raccolto come al solito con tutte le regole asettiche, vi aggiungevo alcune goccie della soluzione di timolo ed il tutto ben tappato ponevo al termostato a diverse temperature: contemporaneamente altrettanta quantità dello stesso latte nelle identiche condizioni, però bollito, veniva messo in termostato come controprova. Senonchè per studiare anche le possibili influenze che avessero potuto esercitare sull'azione del fermento la reazione dell'ambiente, in cui durante la permanenza del latte intermostato, esso si sarebbe venuto a trovare, ho eseguito le stesse ricerche nelle identiche condizioni soltanto procurando di variare la reazione dell'ambiente rendendolo neutro od alcalino, mercè l'aggiunta di alcuni centimetri cubi di una soluzione sterile di potassa al 2 e mezzo per mille, e cioè di quella stessa adoperata per la ricerca del fermento tripsinico. Dopo trascorso il tempo stabilito (vedi appresso tabelle), toglievo dal termostato tale latte, ne saggiavo la reazione e ripetevo quindi il dosaggio dello zuccaro. Il latte per queste serie di esperienze mi è stato fornito come al solito dalla donna, dalla cagna, dall'asina, dalla vacca e dalla capra.

Ed ora vengo a trascrivere nelle seguenti tabelle i risultati dei vari esami eseguiti.

TABELLA XVI. –

Numero d'ordine	DATA	Epoca del parto	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Zucchero contenuto per %
1	16 luglio 1901.	2 mesi	20 cmc.	—	5
2	18 luglio 1901.	40 giorni	id.	..	4.60
3	20 luglio 1901.	60 giorni	id.	—	4.80
4	22 luglio 1901.	6 mesi	id.	—	6.30
5	6 agosto 1901.	18 mesi	id.	.	5.85
6	14 agosto 1901.	2 mesi	id.	—	5.50
7	5 settembre 1901	14 mesi	id.	+(sarcina)	6.05
8	9 settembre 1901	5 mesi	id.	..	5.60
9	18 settembre 1901	40 giorni	id.	—	5.80

te di donna.

…urata della …nanenza in …riostato	Tempera-tura	Quantità di zuccaro per % contenuto nel				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte	Per %	Reazione del latte	Per %	
24 h	39°	acida	4. 40	neutra	4. 90	
30 h	40°	alcalina	3. 80	id.	4. 50	
24 h	39°	id.	4. 15	id.	4. 75	8 h sotto ghiaccio.
24 h	40°	id.	5. 60	id.	6. 22	7 h sotto ghiaccio.
28 h	39°	acida	5. 25	id.	5. 78	
30 h	39°	alcalina	4. 79	id.	5. 45	6 h sotto ghiaccio.
22 h	40°	acida	5. 38	id.	6. 05	
20 h	40°	alcalina	4. 95	id.	5. 56	
32 h	39°	id.	4. 99	id.	5. 75	

TABELLA XVII. — La[illegible]

Numero d'ordine	DATA	Epoca del parto	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Zuccaro contenuto per %
1	20 giugno 1901	11 giorni	10 cmc.	—	4.10
2	25 giugno 1901	16 giorni	id.	+ (stafilococchi)	4.10
3	29 giugno 1901	20 giorni	id.	..	3.90
4	Id.	id.	id.	..	3.90
5	4 luglio 1901	25 giorni	..	+ (b. coli)	..
6	7 agosto 1901.	11 giorni	10 cmc.	—	3.20
7	9 agosto 1901.	13 giorni	id.	+ (sarcina)	3.15
8	Id.	id.	id.	id.	3.15
9	11 agosto 1901.	15 giorni	id.	—	3.30
10	Id.	id.	id.	id.	3.[illegible]
11	13 agosto 1901.	17 giorni	id.	..	3.10
12	Id.	id.	id.	..	3.10

NB. — Il latte per queste esperienze proveniva da due cagne diverse.

agna omnivora.

urata della manenza in ... stato	Tempera-tura	Quantità di zuccaro per % contenuto nel				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte	Per %	Reazione del latte	Per %	
18 h	39°	acida	3. 68	acida	4. 05	
24 h	39°	alcalina	3. 59	neutra	4. 10	
30 h	40°	acida	3. 28	acida	3. 85	6 h sotto ghiaccio.
30 h	40°	alcalina	3. 00	neutra	3. 82	
..	..	..	..	..	..	
36 h	38°	acida	2. 60	neutra	3. 15	
24 h	39°	id.	2. 70	acida	3. 11	8 h sotto ghiaccio.
24 h	39°	alcalina	2. 55	neutra	3. 10	
30 h	40°	acida	2. 78	acida	3. 26	
30 h	40°	alcalina	2. 65	neutra	3. 25	
16 h	40°	acida	2. 75	acida	3. 18	7 h sotto ghiaccio.
16 h	40°	alcalina	2. 55	..	..	

TABELLA XVIII.

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Zuccaro contenuto per %
1	6 luglio 1901	20 cmc.	—	6. 20
2	8 luglio 1901	id.	—	6. 10
3	Id.	id.	—	6. 10
4	11 luglio 1901	id.	+ (sarcina)	5. 94
5	Id.	id.	..	5. 94
6	20 luglio 1901	id.	..	6. 20
7	24 luglio 1901	id.	—	6. 00
8	Id.	id.	—	6. 00

NB. — Il latte proveniva da asine diverse.

r di asina.

...rata ...ella ...anenza ...n ...ostato	Tempera-tura	Quantità di zuccaro per % contenuto nel				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte	Per %	Reazione del latte	Per %	
...1 h	40°	alcalina	5. 75	neutra	6. 10	
...4 h	38°	acida	5. 76	id.	6. 05	
...4 h	38°	alcalina	5. 55	..	..	
...6 h	39°	acida	5. 50	neutra	5. 91	6 h sotto ghiaccio.
...6 h	39°	alcalina	5. 32	..	..	
8 h	39°	alcalina	5. 76	neutra	6. 20	
6 h	40°	acida	5. 60	id.	5. 95	8 h sotto ghiaccio.
6 h	40°	alcalina	5 50	..	..	

Tabella XIX.

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Zuccaro contenuto per %
1	18 luglio 1901	20 cmc.	—	4.80
2	20 luglio 1901	id.	+ (sarcina)	5.00
3	22 luglio 1901	id.	..	4.80
4	3 agosto 1901	id.	—	4.50
5	Id.	id.	—	4.50
6	12 agosto 1901	id.	—	4.60
7	Id.	id.	—	4.60
8	15 agosto 1901	id.	+ (stafilococchi)	4.20
9	22 agosto 1901	id.	—	5.00
10	25 agosto 1901	id.	..	4.40
11	30 agosto 1901	id.	—	4.50
12	Id.	id.	—	4.50

NB. — Il latte proveniva da vacche diverse.

tte di vacca.

Durata della rmanenza in rmostato	Tempera-tura	Quantità di zuccaro per % contenuto nel				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte	Per %	Reazione del latte	Per %	
24 h	38°	acida	3. 99	neutra	4. 76	
24 h	41°	neutra	4. 10	alcalina	4. 90	
22 h	41°	id.	4. 02	id.	4. 90 (?)	
36 h	40°	alcalina	3. 50	acida	4. 45	
36 h	40°	acida	3. 80	..	..	
36 h	40°	neutra	3. 40	alcalina	4. 50	6 h sotto ghiaccio.
36 h	40°	acida	3. 60	..	..	
36 h	40°	alcalina	3. 20	acida	4. 10	2 h sotto ghiaccio.
20 h	39°	neutra	4. 20	neutra	4. 92	
18 h	39°	acida	3. 70	alcalina	4. 32	
30 h	40°	alcalina	3. 50	acida	4. 42	5 h sotto ghiaccio.
30 h	40°	acida	3. 68	..	..	

TABELLA XX. —

Numero d'ordine	DATA	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Latte appena munto — Zuccaro contenuto per %
1	16 luglio 1901	20 cmc.	—	4.00
2	18 luglio 1901	id.	—	4.00
3	Id.	id.	—	4.00
4	20 luglio 1901	id.	. .	4.10
5	Id.	id.	. .	4.10
6	25 luglio 1901	id.	+ (stafilococchi)	3.90
7	28 luglio 1901	id.	—	4.00
8	Id.	id.	—	4.00
9	1 agosto 1901	id.	. .	3.88
10	4 agosto 1901	id.	—	4.05
11	Id.	id.	—	4.05
12	6 agosto 1901	id.	. .	3.90

NB. — Il latte proveniva da più capre.

tte di capra.

Durata della rmanenza in rmostato	Tempera-tura	Quantità di zuccaro per % contenuto nel				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Reazione del latte	Per %	Reazione del latte	Per %	
24 h	38°	alcalina	3. 20	neutra	4. 00	
24 h	39°	neutra	3. 39	id.	3 92	
24 h	39°	acida	3. 60	..	..	
37 h	41°	alcalina	3. 25	alcalina	4. 01	
37 h	41°	acida	3. 48	..	..	
20 h	40°	alcalina	3. 36	acida	3. 82	6 h sotto ghiaccio.
30 h	39°	id.	3. 20	id.	3. 50 (?)	
30 h	39°	acida	3. 41	..	..	
26 h	39°	alcalina	3. 12	neutra	3. 85	7 h sotto ghiaccio.
20 h	40°	id.	3. 40	acida	4. 00	
20 h	40°	acida	3. 40	..	..	
32 h	39°	alcalina	3 10	neutra	3. 88	3 h sotto ghiaccio.

La conclusione di indole generale che ne consegue da queste ricerche è abbastanza evidente: difatti noi possiamo affermare che in genere tutti i latti esaminati sono dotati del fermento glucolitico, il quale, per ciò che riguarda la sua energia, si riscontra abbastanza attivo nel latte di vacca e quasi in egual grado nel latte di capra, ai quali latti subito tiene dietro quello di donna e di cagna con lieve differenza in meno nel loro potere, mentre invece il latte di asina contiene un fermento glucolitico che si è mostrato il meno energico di tutti. La vitalità di questo fermento nei vari latti non rimane in alcun modo danneggiata dall'azione delle basse temperature (ghiaccio), ed il suo potere funzionale si esplica nel modo migliore alle temperature tra 38°-41° centigradi per un periodo di tempo variabile, almeno secondo le nostre esperienze, dalle 18 ore in poi. Non sono state eseguite ricerche precise allo scopo di stabilire il tempo minimo necessario, perchè coi nostri mezzi di esame il fermento dimostri che la sua azione si è cominciata ad esplicare. Per riguardo all'energia funzionale di tale diastasi in rapporto coll'epoca dell'avvenuto parto (donna-cagna) abbiamo potuto convincerci sempre più che non esiste in proposito alcuna differenza almeno notevole; giacchè tanto nei primi tempi, quanto anche dopo molti mesi la reazione è stata presso che identica. Da ultimo la dimostrazione della presenza della diastasi glucolitica nei vari latti serve ad illustrare meglio le ricerche eseguite a proposito del fermento amilolitico: difatti, come sopra abbiamo detto, per studiare l'amilasi nel latte abbiamo aggiunto una soluzione di salda d'amido al latte stesso, eppoi per le ricerche qualitative abbiamo solo visto se l'amido era stato trasformato in zuccaro, e invece per le ricerche quantitative abbiamo dosato questo zuccaro prodotto, e la differenza in più che eventualmente si fosse trovata ci rappresentava l'amido trasformato e quindi anche il grado di energia di tale fermento. Ora dopo tali studi sul fermento glucolitico dobbiamo riconoscere che se seguendo tale metodo per lo studio dell'amilasi abbiamo raggiunto lo scopo prefissoci, cioè di comparare tra loro l'energia dei fermenti dei vari latti, è pure vero che tale metodo non è veramente esatto in senso assoluto, giacchè in tale caso sarebbe necessario aggiungere, durante il dosaggio dello zuccaro, alla quantità di esso che si ritrova in più dopo le esperienze coll'amido, quello che in pari tempo si è perduto o distrutto per l'azione delle glucolisi; altrimenti è evidente che in definitiva la quantità di zuccaro che si trova alla fine dell'esperienza sarà sempre minore di quello che in realtà dovrebbe essere, tenuto conto che mentre da

un lato l'amilasi produce zuccaro, dall'altro contemporaneamente il fermento glucolitico lo distrugge.

Infine è utile anche notare come dalle tabelle esposte risulti chiaro che l'azione della diastasi glucolitica è notevolmente avvantaggiata in un ambiente alcalino a confronto di quello acido.

***

I risultati ottenuti da tutti questi studi così minutamente esposti, ci autorizzano a trarre delle conclusioni positive di indole generale di un certo interesse.

Tali risultati non si possono dire veramente completi e quindi è naturale che converrà studiare nel latte tutti i fermenti solubili conosciuti (e specialmente quelli riguardanti le sostanze albuminoidi ed i grassi), ma intanto possiamo affermare che nel latte si trovano certamente un buon numero di essi, ed in gran parte i più importanti di ciascuna delle quattro categorie del Duclaux. Non credo sia questo il momento di entrare in discussione sull'importanza maggiore o minore, che realmente si deve attribuire alla presenza ed all'azione di questi fermenti sulla nutrizione e sullo sviluppo del bambino allevato al seno a differenza di quello allevato artificialmente, giacchè è certo che a prima vista, tenuto conto delle nostre cognizioni in materia, non si comprende bene il perchè della presenza di taluni dei fermenti studiati nel latte; ma oltre che il non saperci rendere ragione al momento presente di tale fatto non ci autorizza davvero a ritenerlo completamente inutile, conviene pure tenere conto che Escherich stesso attribuisce la maggiore importanza alle trofo-zimasi, più che alle zimasi: ed infine che solo gli studi ulteriori clinici e sperimentali potranno e dovranno essi risolvere la questione dell'importanza di tali zimasi nel latte. Intanto risulta dimostrato la presenza di tutti questi fermenti nel latte, ciò che serve a dare non solo la prova diretta di una parte dell'ipotesi di Escherich, vale a dire di quella almeno che si riferisce all'esistenza delle zimasi nel latte, ma anche a provare che il latte non è davvero un liquido inerte, destinato solo all'alimentazione, ma è un liquido attivo dotato di proprietà biochimiche, come tutti i tessuti viventi e quindi capace di esercitare speciali influenze sul neonato.

Inoltre da queste ricerche si può concludere che alcuni fermenti ed anzi la maggior parte di quelli sino ad ora noti si trovano in grado maggiore o minore in quasi tutti i latti, fatta eccezione ve-

ramente di due (quelli dell'amido e del salolo), i quali, almeno sino al presente, fanno diversificare essenzialmente sotto questo punto di vista il latte di donna da quello di vacca e di capra (i più usati), e che potrebbero quindi fare propendere un poco per l'idea della esclusività e della specificità dei fermenti, a seconda della diversa provenienza del latte stesso. Da ultimo un altro fatto emerge chiaro da questi studi, e cioè che gli animali, almeno quelli più comuni e studiati, si possono, compresa la donna, per ciò che riguarda i fermenti del latte, dividere in due grandi categorie: *animali a vitto omnivoro* (donna-cagna), *ed animali a vitto erbivoro* (capra-vacca); nei primi si rinvengono in grado maggiore o minore tutti i fermenti sino ad ora studiati, nei secondi invece alcuni fanno difetto, non ostante taluni di quelli presenti siano molto più energici ed attivi di quelli contenenti nel latte dei primi. In mezzo e come anello, diciamo così, di congiunzione tra queste due grandi categorie si trova l'asina, il latte della quale per le sue proprietà diastasiche si avvicina tanto a quello degli animali erbivori, che a quello degli omnivori. Non sembrerà quindi strano che tale constatazione, tenuto conto anche della composizione chimica del latte, possa in un certo modo agevolarci la spiegazione del fatto, consacrato dall'esperienza di tanto tempo, e cioè che il latte di asina è il migliore succedaneo del latte muliebre, almeno durante i primi mesi di vita del neonato.

Parte II.

Questi fermenti solubili sono essi specifici o meglio esclusivi di ciascuna specie di animale?

I risultati dagli altri e da me ottenuti colle ricerche dei fermenti nei vari latti, considerati attentamente, porterebbero a concludere che realmente non debba esistere tale specificità. Difatti abbiamo veduto come tutti i fermenti fino ad ora noti che si trovano nel latte di donna, si trovano anche nel latte di cagna, variandone solo l'intensità, anche il latte di asina talune volte ne contiene in modo quasi completo, e perfino nel latte di capra e di vacca, che è quello che più si discosta dal latte di donna, pochi sono quelli che fanno difetto, e precisamente fino al momento presente quello idratante dell'amido e del salolo. Per altro con ciò non si vuole affermare in modo assoluto che realmente soltanto per questi due fermenti il latte della capra e della vacca si differenzia da quello di donna, giacchè è molto probabile che studi ulteriori

metteranno in evidenza altre differenze sotto questo punto di vista D'altra parte abbiamo avuto occasione di notare che esiste invece una grande diversità tra animali *omnivori* ed *erbivori*: ciò fa supporre che con molta probabilità tale diversità debba dipendere dal genere di alimentazione così differente tra queste due categorie di animali, piuttosto che da cause ignote, riferentesi e legati intimamente a ciascuna specie di animale: tanto più poi si pensa alla grandissima influenza che esercita il modo di vita e l'ambiente in genere, in cui ogni essere si trova costretto a vivere, non solo in tutte le manifestazioni esteriori dell'essere vivente stesso, ma anche nella propria struttura e nella vita interiore.

Guidato appunto da questi concetti e tenuto conto della grandissima importanza dell'argomento, alla risoluzione del quale era utile in qualche modo contribuire, volli tentare la prova: a tale scopo stabilii di fare una serie di ricerche sistematiche dei vari fermenti avanti studiati e collo stesso metodo nel latte dei diversi animali prima e dopo averli tenuti per un periodo di tempo a vitto diverso dall'ordinario.

Debbo dire che simili ricerche io non le ho potuto subito instituire nella donna, giacchè la cosa non è poi tanto semplice come a prima vista sembrerebbe (come ad es. il dovere tenere una donna per più mesi a vitto *esclusivamente* erbivoro); e quindi le ho praticate negli animali, ciò che del resto per la nostra questione valeva la stesso. A tale riguardo ho preso da un lato la cagna, il cui latte contiene tutti i fermenti come quelli di donna e la ho messa a vitto esclusivamente erbivoro, e dall'altro la capra, che come rappresentante della categoria degli erbivori, aveva nel suo latte una deficienza di quei dati fermenti, e la ho tenuta a vitto omnivoro.

Ecco come hanno proceduto le esperienze.

Si esamina il latte di una cagna ripetutamente rapporto a tutti i fermenti studiati, e si constata che esso li contiene tutti nello stesso modo di quello già riferito nelle precedenti tabelle, (mi preme dichiarare fino da ora come in queste serie di esperienze sieno state eseguite solo ricerche qualitative); tale cagna si sottopone il giorno 9 agosto 1901 a vitto esclusivamente erbivoro, vale a dire: pane bagnato in acqua e patate cotte con aggiunta di sale ed olio di oliva. Dopo 5 giorni di tale vitto si ripete l'esame completo dei fermenti del latte e così si continua in seguito a giorni alterni. Trascriverò nelle tabelle i risultati ottenuti; per altro mi limiterò a riferire per esteso solo quelli riguardanti il fermento idratante dell'amido e del salolo (dei due cioè che servono fino ad ora a differenziare sotto tale rapporto il latte degli erbivori da quello degli omnivori), giacchè per ciò che si riferisce a tutti gli altri, anche col combiamento di vitto alla cagna non ho riscontrato in essi variazioni qualitative molto sensibili, almeno tenuto conto dei mezzi di analisi da me adoperati.

α) Ferm

TABELLA XXI. — L

Numero d'ordine	DATA	Durata del vitto erbivoro	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Quantit di salda di amido aggiunt (2 ° ...
1	14 agosto 1901.	5 giorni	5 cmc.	—	5 cmc
2	16 agosto 1901.	7 giorni	id.	..	id
3	Id.	id.	id.	..	id.
4	18 agosto 1901.	9 giorni	id.	—	id.
5	21 agosto 1901.	12 giorni	id.	..	id
6	24 agosto 1901.	15 giorni	id.	+ (sarcine)	id.
7	28 agosto 1901.	19 giorni	id.	..	id.
8	Id.	id.	id.	..	2 cmc
9	31 agosto 1901:	22 giorni	id.	—	5 cmc
10	Id.	id.	id.	—	2 ½ cm
11	4 settembre 1901	26 giorni	id.	..	5 cmc
12	8 settembre 1901	30 giorni	id.	+ (stafilococco)	id.
13	Id.	id.	id.	..	2 ½ cm
14	11 settembre 1901	33 giorni	id.	..	5 cm
15	Id.	id.	id.	..	2 ½ c
16	13 settembre 1901	35 giorni	id.	—	5 c

olitico.

gna erbivora.

urata della anenza in nostato	Temperatura	Reazione				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Eritrodestrina	Acrodestrina	Eritrodestrina	Acrodestrina	
32 h	40°	..	+	..	—	
36 h	40°	..	+	..	—	
20 h	40°	..	+	..	—	5 h sotto ghiaccio.
24 h	39°	..	+	..	—	
15 h	40°	+	?	..	—	
24 h	40°	..	+	..	—	3 h sotto ghiaccio.
20 h	40°	+	?	.	—	
20 h	40°	..	+	..	—	
30 h	39°	..	+	..	—	
20 h	39°	..	+	..	..	
20 h	40°	+	—	—	..	
20 h	40°	+	—	—	..	5 h sotto ghiaccio.
18 h	40°	+	—	—	..	
26 h	40°	+	—	—	..	
36 h	35°	..	+	..	..	
24 h	40°	+	..	..	—	

β) **Fermento i**

TABELLA XXII. — *L*

Numero d'ordine	DATA	Durata del vitto erbivoro	Quantità di latte adoperato	Esame culturale
1	14 agosto 1901	5 giorni	5 cmc.	—
2	16 agosto 1901	7 giorni	id.	..
3	18 agosto 1901	9 giorni	id.	—
4	2 agosto 1901	12 giorni	id.	..
5	24 agosto 1901	15 giorni	id	+ (sarci
6	28 agosto 1901	19 giorni	id.	..
7	31 agosto 1901	22 giorni	id.	—
8	4 settembre 1901.	26 giorni	id.	..
9	8 settembre 1901.	30 giorni	id.	+ (stafilo-cocco)
10	11 settembre 1901.	33 giorni	id.	..
11	13 settembre 1901.	35 giorni	id.	—

nte del salolo.

cagna erbivora.

Quantità di salolo aggiunto	Durata della permanenza in termostato	Temperatura	Reazione Latte crudo	Reazione Latte cotto	Osservazioni
1 grammo	32 h	40°	+	—	
id.	15 h	40°	+	—	
id.	20 h	39°	+	—	5 h sotto ghiaccio.
id.	15 h	39°	+	—	
id.	20 h	40°	+	—	3 h sotto ghiaccio.
id.	19 h	40°	+	—	
id.	21 h	40°	+	—	
id.	20 h	39°	+	—	5 h sotto ghiaccio.
id.	19 h	40°	?	—	
id.	18 h	40°	?	—	
id.	19 h	40°	?	—	

Appare subito evidente che questa prima serie di ricerche nel latte di cagna non è riuscita dimostrativa in modo completo, non essendosi potuto raggiungere limiti netti e precisi: nè ciò deve arrecare meraviglia, imperocchè io credo che di questo si debba dare la colpa al fatto di essere stati costretti ad interrompere le esperienze (forse nel momento il più propizio) per la sola ragione però che alla cagna era venuto a mancare il latte — difatti si sa che alle cagne di regola il latte viene a mancare dopo circa due mesi dal parto — giacchè, continuando a tenere tali animali a vitto esclusivamente vegetale per un periodo di tempo molto più lungo, dai risultati ottenuti si dovrebbe con molta probabilità concludere che questi due fermenti (dell'amido e del salolo) avrebbero diminuito enormemente d'intensità fino forse a scomparire anche del tutto. Difatti le tabelle sopra riferite ci dicono chiaramente che ad esempio il fermento amilolitico, contenuto nel latte della cagna in esperimento sopra un periodo di vitto esclusivo vegetale durato 28 giorni, non era più capce di trasformare la stessa quantità di amido nello stesso periodo di tempo in acrodestrina, ma solo in eritrodestrina, ed in seguito nemmeno se si diminuiva la quantità di amido aggiunto.

Del resto se le ricerche eseguite nella cagna non ci hanno potuto fornire una dimostrazione completa esse però vengono completate e meglio illustrate dalle ricerche instituite in senso inverso sulla capra, il latte della quale abitualmente è privo del fermento tanto dell'amido quanto del salolo.

Infatti dopo di avere esaminato sotto il punto di vista dei fermenti il latte di una capra, ed ottenutine i risultati già noti ossia la mancanza assoluta del fermento idratante dell'amido e del salolo, sottoposi questa capra il giorno 27 luglio 1901 a vitto omnivoro vale a dire di erbaggi come il solito, ma di più le feci ingoiare forzatamente del latte di vacca (1 litro *pro die*) pei primi dodici giorni, poi si aggiunsero delle uova crude (6-8 *pro die*), e dopo circa altri 28 giorni si aggiunse ancora della carne di vaccina cruda bene pestata e precisamente circa 500 gr. di pancreas di bue. Intanto si praticava continuamente ogni 4-5 giorni l'esame del latte per riguardo ai fermenti, ed anzi in tale circostanza è stato pure eseguito l'esame chimico completo del latte della capra prima e dopo averla sottoposta a tale vitto, per vedere se si verificassero variazioni degne di nota nel rapporto dei suoi costiteunti normali.

I risultati ottenuti da tutte queste ricerche li esporrò nelle seguenti tabelle; in esse per ciò che riguarda i fermenti figureranno soltanto gli studi che si riferiscono a quello amilolitico ed a quello idratante del salolo, i due cioè che in questo momento veramente ci interessano, giacchè l'esame degli altri fermenti durante tutto questo tempo che la capra è stata a vitto

omnivoro non ci ha fatto constatare variazioni tali da meritare di essere riferite minutamente, almeno per ciò che abbiamo potuto osservare dietro l'analisi qualitativa eseguita di tali fermenti, la sola che in questa serie di ricerche sia stata praticata.

Tabella XXIII. — *Esame chimico del latte della capra.*

Quantità — Cmc.	Acidità	Densità a + 15	Grasso °/。	Zuccaro °/。	Sostanze azotate °/。	Caseina °/。
			A vitto erbivoro.			
800	0. 25	1028	4. 65	4. 80	2. 82	2.44
760	0. 21	1029	3. 90	4. 78	2 89	2. 58
750	0. 28	1028	4. 10	4. 82	2. 94	2. 36
			A vitto omnivoro per 2 mesi.			
780	0. 33	1026. 5	6. 50	3. 35	3. 50	2. 96
730	0. 35	1026	7	3. 30	3. 55	3. 11
710	0. 35	1025. 9	6. 80	3. 30	3. 46	3. 05

a) **Ferment**

TABELLA XXIV. — *Latt*

Numero d'ordine	DATA	Durata del vitto omnivoro	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Quantità di salda di amido aggiunta (2 %)
1	29 luglio 1901	5 giorni	10 cmc.	—	5 cmc.
2	Id.	id.	5 cmc.	—	2 cmc.
3	4 agosto 1901	11 giorni	10 cmc.	..	3 cmc.
4	8 agosto 1901	15 giorni	id.	—	5 cmc.
5	Id.	id.	id.	—	2 cmc.
6	13 agosto 1901	20 giorni	5 cmc.	..	id.
7	Id.	id.	id.	..	id.
8	Id.	id.	id.	..	id.
9	19 agosto 1901	26 giorni	10 cmc.	+ (sarcina)	5 cmc.
10	Id.	id.	id.	..	$2 \frac{1}{2}$ cmc.
11	Id.	id.	5 cmc.	..	2 cmc.
12	23 agosto 1901	30 giorni	10 cmc.	—	3 cmc.
13	27 agosto 1901	34 giorni	5 cmc.	..	2 cmc.
14	Id.	id.	id.	..	id.
15	Id.	id.	id.	..	id
16	2 settembre 1901	40 giorni	10 cmc.	—	3 cmc.
17	10 settembre 1901	48 giorni	id.	—	5 cmc.
18	Id.	id.	id.	—	$2 \frac{1}{2}$ cmc.
19	Id.	id.	id.	—	5 cmc.
20	Id.	id.	5 cmc.	—	2 cmc.
21	13 settembre 1901	51 giorni	10 cmc.	..	3 cmc.
22	16 settembre 1901	54 giorni	5 cmc.	—	2 cmc.
23	Id.	id.	id.	—	1 cmc.
24	18 settembre 1901	56 giorni	id.	..	id.
25	Id.	id.	10 cmc.	..	4 cmc.
26	20 settembre 1901	58 giorni	5 cmc.	—	1 cmc.
27	Id.	id.	id.	..	2 cmc.
28	Id.	id.	10 cmc.	..	4 cmc.

filitico.

capra omnivora.

Durata della rmanenza in mostato	Tempera-tura	Reazione				Osservazioni
		Latte crudo		Latte cotto		
		Eritrode-strina	Acrode-strina	Eritrode-strina	Acrode-strina	
24 h	40°	—	..	—	..	
24 h	40°	—	..	—	..	
36 h	39°	—	..	—	..	
30 h	39°	—	..	—	..	2 h sotto ghiaccio.
30 h	39°	—	..	—	..	
24 h	40°	—	..	—	..	
36 h	40°	—	..	—	..	
48 h	40°	—	..	—	..	
48 h	40°	—	..	—	..	5 h sotto ghiaccio.
48 h	40°	—	..	—	..	
36 h	40°	—	..	—	..	
30 h	40°	—	..	—	..	
36 h	40°	—	..	—	..	
48 h	40°	—	..	—	..	
60 h	40°	—	..	—	..	
36 h	40°	—	..	—	..	
24 h	40°	—	..	—	..	6 h sotto ghiaccio.
24 h	40°	?	..	—	..	
40 h	40°	?	..	—	..	
50 h	40°	+	—	—	..	
36 h	40°	+	—	—	..	
40 h	40°	+	—	—	..	3 h sotto ghiaccio.
24 h	40°	+	—	—	..	
26 h	40°	+	—	—	..	
48 h	40°	?	..	—	..	
24 h	40°	+	?	—	..	4 h sotto ghiaccio.
36 h	40°	+	..	—	..	
50 h	40°	+	—	—	..	

β) **Fermento id**

TABELLA XXV. — *La*

Numero d'ordine	DATA	Durata del vitto omnivoro	Quantità di latte adoperato	Esame culturale
1	29 luglio 1901	5 giorni	5 cmc.	—
2	3 agosto 1901	10 giorni	id.	. .
3	7 agosto 1901	14 giorni	id.	—
4	12 agosto 1901	19 giorni	id.	. .
5	Id.	id.	id	. .
6	16 agosto 1901	23 giorni	id.	—
7	Id.	id.	id.	—
8	20 agosto 1901	27 giorni	id.	. .
9	Id.	id.	id.	. .
10	23 agosto 1901	30 giorni	id	—
11	Id.	id.	id.	—
12	28 agosto 1901	35 giorni	id.	. .
13	1 settembre 1901.	39 giorni	id.	—
14	8 settembre 1901.	46 giorni	id.	. .

...ate del salolo.

...capra omnivora.

Quantità di salolo aggiunto	Durata della permanenza in termostato	Tempera-tura	Reazione		Osservazioni
			Latte crudo	Latte cotto	
gr. 0. 25	24 h	40°	—	—	
id.	24 h	40°	—	—	
id.	24 h	40°	—	—	
id.	24 h	39°	—	—	3 h sotto ghiaccio.
id.	48 h	39°	—	—	
id.	24 h	40°	—	—	9 h sotto ghiaccio.
id.	48 h	40°	—	—	
id.	36 h	40°	?	—	
id.	48 h	40°	?	—	
id.	36 h	40°	+	—	4 h sotto ghiaccio.
id.	48 h	40°	+	—	
id.	28 h	40°	+	—	
id.	24 h	40°	+	—	
id.	20 h	39°	+	—	5 h sotto ghiaccio.

I risultati ottenuti da questa serie di ricerche sulla capra sono adunque veramente dimostrativi e tali da farci trarre delle conclusioni precise. Difatti la capra è stata tenuta per un paio di mesi a vitto omnivoro: orbene gli esami ripetuti del fermento tanto dell'amido che del salolo (prescindendo dagli altri per le ragioni avanti esposte), che prima erano completamente assenti, ci hanno dimostrato la graduale comparsa dei medesimi: primo è comparso quello idratante del saldo dopo circa un mese di tale vitto, ed in seguito anche quello amilolitico dotato di un potere tutt'altro che trascurabile in quanto che riusciva a trasformare l'amido in eritrodestrina. Del resto le tabelle riferite sono abbastanza chiare da per se stesse, e non occorre che io mi dilungi ancora ad illustrarle meglio nei loro particolari, come ad es. l'azione del ghiaccio, la durata della permanenza in termostato, ecc., ecc. Per conseguenza è logico concludere che cambiando vitto agli animali in esperimento, anche i fermenti contenuti nel latte da essi prodotti qualitativamente si modificano; ond'è che la presenza di questi nel latte sembra legata al genere di alimentazione dell'animale lattifero, tanto che variando opportunamente questa si può riuscire a fare comparire nel latte ad es. di capra tutti i fermenti contenuti nel latte di donna e di cagna.

E del resto tale modo di concepire la cosa non può arrecare alcuna meraviglia, essendo esso in perfetto accordo non solo colle considerazioni e coi risultati sperimentali sui fermenti · avanti esposti, ma anche colle ricerche già note di altri sperimentatori a proposito dei fermenti solubili, che possono segregare certi esseri viventi (14). Al quale riguardo mi limiterò ad accennare alle esperienze del Duclaux, il quale studiando le cause che influenzano la secrezione cellulare delle diastasi, in particolar modo su due muffe (*Aspergillus glaucus* e *Penicillium glaucum*), potè stabilire che esse sono capaci di segregare quattro differenti diastasi, a seconda del terreno su cui si costringono a vivere; tanto che egli concluse che la produzione delle diastasi delle cellule vegetali cangia col modo di alimentazione delle medesime e che nell'interno delle cellule probabilmente delle diastasi sono presenti tutte contemporaneamente quelle che essa è capace di secernere. Infatti il Bourquelot pestando con sabbia fina e acqua l'*Aspergillus niger*, ha ritrovato nel liquido invertina, glucasi, amilasi, trealasi, emulsina, inulasi e tripsina; col *Penicillium glaucum*, trattato alla stessa maniera, trovò invertina, glucasi. trealasi, amilasi e inulasi, ed in quest'ultimo il Duclaux vi aveva trovato presame e tripsina, ed il Gérard anche la lipasi. Così pure lo stesso Duclaux ha dimostrato che le diastasi

del fegato, del sangue ed anche del rene sono notevolmente influenzate dal genere di alimentazione a cui viene sottoposto l'animale produttore delle medesime; difatti se ne può fare variare assai la quantità modificando opportunamente la dieta. Infine anche il Fermi, a proposito dei batterii segreganti l'amilasi, ha dimostrato che il terreno nutritivo ha grande importanza, perchè in terreni privi di albumina tale fermento non si formerebbe, mentre si formerebbero invece anche in terreni privi di amido. Quindi (senza moltiplicare ancora altri esempi a tale riguardo) a meglio convalidare i risultati delle mie ricerche sperimentali, vari argomenti di analogia, come si vede, stanno già in favore. Onde è che in tale modo nel mentre rimane spiegata la gravissima questione della specificità ed esclusività assoluta dei vari fermenti ritrovati nel latte dei diversi animali, in pari tempo si porta un contributo alla conoscenza intima sulla formazione di tali fermenti.

E del resto volendo considerare anche più attentamente tale questione non potrà davvero sembrare strano che variando in modo opportuno l'alimentazione si possa riuscire a fare variare anche i fermenti contenuti nel latte. Imperocchè dal momento che in tesi generale i fermenti solubili, almeno quei più noti e studiati, presiedono all'assorbimento dei materiali introdotti, nonchè all'assimilazione ed utilizzazione di essi per parte dei singoli organi e tessuti, è evidente che la produzione di tali fermenti deve stare intimamente legata col genere di alimentazione e di vita dell'animale stesso, altrimenti non si comprenderebbe più lo scopo della loro esistenza. E quindi è chiaro che specialmente le ghiandole ed i tessuti destinati alla produzione di tali fermenti intanto producono quei dati fermenti in quanto essi sono necessari per l'organismo, ciò che nelle manifestazioni biologiche si traduce in atto con stimoli speciali adatti alla produzione di quello piuttosto che di quell'altro fermento. Ora la cosa più logica e consentanea a pensare, dietro le ricerche eseguite da tutti gli osservatori è appunto quella che un tale stimolo sia fornito dagli alimenti introdotti, per cui un animale ha bisogno maggiore di un dato fermento a preferenza di un altro che si nutre di cibi diversi. E tali fermenti così prodotti sono utilizzati poi dall'organismo per quanto è necessario e pel resto invece, seguendo le leggi fisio-biologiche generali, vengono eliminati dagli organi a secrezione esterna; e tale quantità eliminata, come sopra abbiamo dimostrato colle esperienze del Duclaux, varia appunto col variare del cibo. Quindi quanto maggiore è la quantità del fermento che viene eliminato, tanto minore doveva esserne

la necessità e l'utilità per l'organismo in quel dato momento, per cui un'importanza molto relativa si dovrebbe attribuire al fatto di trovarne in copia maggiore o minore. Per conseguenza se anche la ghiandola mammaria, quale organo a secrezione esterna, si volesse sotto il punto di vista dei fermenti solubili che si rinvengono nel latte rassomigliare al rene, si dovrebbe in un certo modo venire alla conclusione che tali fermenti sono più che altro prodotti di eliminazione invece che di secrezione specifica (del quale fatto vedremo in seguito come possa darsene una prova abbastanza convincente); ed allora la maggiore o minore quantità di essi nel latte dovrebbe stare nè più nè meno che in intimo rapporto colla minore o maggiore utilizzazione che ne deve fare l'organismo pei suoi bisogni vitali.

E difatti le ricerche fino ad ora eseguite, considerate attentamente tenderebbero appunto ad ammettere questa interpretazione. Imperocchè gli studi fatti su ciascuno dei fermenti fino ad ora noti ci hanno dimostrato che ad esempio l'amilasi mentre è abbondante nel latte degli omnivori (donna-cagna) è invece mancante in quello degli erbivori (vacca-capra); ora è molto probabile che ciò dipenda dal fatto che gli erbivori, introducendo come alimento quasi esclusivamente sostanze amidacee, hanno bisogno di molte amilasi per poterle assorbire ed assimilare (e difatti è dimosrtato che nell'organismo della vacca in grande quantità si produce il fermento amilolitico) e quindi tale fermento, essendo per essi il più necessario, viene impiegato ed utilizzato e per nulla eliminato, perchè, quasi direi, è appena sufficiente pei continui bisogni; d'altro canto invece negli omninvori in cui le sostanze amidacee rappresentano la parte meno importante nella nutrizione si verifica il fenomeno inverso, e quindi l'amilasi prodotta dall'organismo, essendo quasi sempre in eccesso rapporto al necessario, viene eliminata. Che se prendiamo a considerare il fermento proteolitico, il quale abbiamo visto comportarsi in modo inverso a quello amilolitico, vediamo come esso ci serva di una controprova mirabile. Difatti esso è abbondantissimo nel latte di vacca, la quale si può dire che non fa uso di sostanze albuminoidi per la sua nutrizione, e quindi tale fermento non utilizza per l'assorbimento e l'assimilazione, mentre invece è molto scarso nel latte di donna, che si ciba in grandissima prevalenza di sostanze albuminoidi. Lo stesso ragionamento potrà farsi, per non essere troppo lunghi, per gli altri fermenti studiati, quantunque per alcuni di essi (ad esempio quello idratante il salolo) debba ritenersi che la loro azione si esplichi nel coadiuvare quella di un altro fermento, come potrebbe essere l'ami-

lolitico, e per altri poi (ad esempio l'ossidasi) non possa discutersi intimamente la cagione, non conoscendosi ancora bene tutti i loro destini ed i processi intimi che si producono per opera di essi in seno all'organismo. Che anzi io credo che si possa senza molta difficoltà dare la prova sperimentale di questo modo di considerare le cose, al quale scopo basterebbe tenere una donna od anche alcuni animali per un periodo di tempo al vitto ordinario e dosare quantitativamente tutti i fermenti noti nel latte, eppoi per un altro periodo di tempo a vitto esclusivamente diverso per vedere proprio fino a qual punto questi fermenti subiscano variazioni, che possano veramente mettersi in stretto rapporto coi bisogni dell'organismo animale assoggettato a tale genere di alimentazione, ed infine rimettere l'animale al vitto primitivo, per constatare se anche i fermenti ritornino allo stato primiero.

Ma del resto, prove sperimentali a sostegno di quanto sono venuto esponendo, oltre quelle già riferite, possono venirci anche fornite dalle mie ricerche sul cambiamento di vitto agli animali. Difatti, noi abbiamo veduto, che la capra sottoposta per un lungo tempo a vitto omnivoro ha finito per far comparire nel latte tanto il fermento idratante il salolo che quello amilolitico: ora la constatazione di tale fatto non può trovare una spiegazione plausibile altro che ammettendo l'interpretazione da noi enunciata a proposito della presenza dei fermenti solubili nel latte, e cioè, che la capra sottoposta a vitto omnivoro, non avendo più necessità di tanta amilasi per le sue funzioni biologiche, ne ha potuto eliminare una parte anche per il latte; giacchè è certo che stando a questo vitto, noi non le abbiamo davvero dato niente di nuovo od aggiunto in più di fermento amilolitico di quello che la capra stessa non ne poteva avere nel suo organismo in precedenza. Lo stesso fatto, però in senso inverso, abbiamo visto iniziarsi nella cagna sottoposta a vitto erbivoro esclusivo: in essa, facendosi più sentiti i bisogni del fermento amilolitico per assorbire ed assimilare le sostanze amidacee introdotte, e quindi venendo in buona parte utilizzato se ne veniva in definitiva a ritrovare in minore quantità nel latte.

Che anzi il tempo così lungo che noi abbiamo visto essere necessario perchè il fenomeno si verifichi mercè il cambiamento di vitto (più di due mesi per la capra ed un mese e mezzo per avere l'inizio nella cagna) mentre a prima vista sembrerebbe dovesse in parte contradire a questo modo di vedere, invece ne prova sempre più la probabilità, perchè è chiaro che l'animale abituato a quel dato vitto da anni e quindi anche le sue ghiandole e tessuti a ricevere quei

dati stimoli ed a secernere quei dati fermenti in quella data misura e quantità, dovrà passare molto tempo prima che l' animale stesso ed il suo organismo si abitui ad un genere di vita tutto nuovo. E così pure pel fatto che dopo un mese e mezzo di vitto esclusivo erbivoro somministrato alla cagna, il fermento amilolitico non è del tutto scomparso nel latte, oltre alla ragione ora esposta, deve anche tenersi presente per una completa spiegazione del fenomeno che con tale vitto la cagna introduceva relativamente alla capra e vacca pochissime sostanze amidacee e per di più, già cotte; e quindi, poca amilasi le occorreva impiegare per il loro assorbimento ed assimilazione.

Conseguentemente in tal modo considerate le cose, si rende, come si vede, abbastanza facile non solo il darci la spiegazione del perchè nei latti si trovino tutti quei fermenti fino ad ora noti ed in grado maggiore o minore, ma anche del perchè in taluni animali alcuni facciano difetto. Inoltre, così noi potremmo darci una plausibile spiegazione, sia della presenza, ad es. nel latte del fermento glucolitico, il quale, in realtà, dovrebbe considerarsi più dannoso che utile, e sia del famoso « gaspillage » citato da Escherich a proposito del fermento amilolitico nel latte di donna (il solo allora bene conosciuto) ed infine ci si potrebbe dare anche ragione del fatto citato dal Moro, come inesplicabile e come uno dei più validi contro la ipotesi che i fermenti contenuti nel latte sieno in gran parte prodotti di eliminazione, e cioè del perchè manchi nel latte di vacca l'amilasi, mentre invece essa si trova molto energica nel suo sangue circolante. Onde è che attenendoci a questo modo di vedere è evidente che la presenza dei fermenti solubili nel latte, perderebbe molto dell'importanza primitiva, ed una tale interpretazione non sarebbe davvero d'accordo colle idee svolte in proposito dallo stesso Escherich. Ma io per ora, non potendo affermare nulla di positivo in proposito, continuerò ad attenermi alla teoria di Escherich avanti citata, in attesa che le ricerche ulteriori, e più che altro, le esperienze cliniche si incarichino di dire quanto di vero vi sia in questa ipotesi da me enunciata, cui io ho creduto soltanto mio dovere di emettere ed illustrare fin da ora, perchè trova riscontro su vari fatti sperimentali.

Per altro, ritornando più direttamente in argomento conviene anche tenere presente i risultati ottenuti dall'esame chimico del latte della capra assoggettata a questo vitto speciale. Le cifre riportate nella tabella dimostrano chiaramente la grandissima influenza esercitata da un vitto omnivoro ricco di sostanze nutritive in modo così

soverchio sui componenti del latte stesso, specialmente sulla sua acidità, sullo zucchero, sulle sostanze albuminoidi e sul grasso, fino a giungere quest'ultimo al 7 per cento. Ora, è evidente che se la produzione di un latte così ricco in principî nutritivi potrà essere utile dal lato industriale, certo non sarà adatto per la nutrizione dei bambini, non ostante tutti i fermenti, che si trovano anche nel latte di donna.

Infine, una volta dimostrato che i fermenti contenuti nel latte non sono assolutamente esclusivi della donna, rimane anche dimostrato il danno della bollitura e sterilizzazione del latte: il quale quindi (come già si pratica per opera della compagnia Walker-Gordon nelle principali città degli Stati Uniti d'America, basandosi appunto sull'esperienza clinica) andrebbe — e ciò sarebbe l' ideale da raggiungere — preferibilmente somministrato al bambino *crudo*, così come è munto dagli animali, dietro, ben inteso, le più scrupolose regole dell'igiene e della asepsi, con la opportuna correzione per riguardo alla sua composizione chimica, eppoi tenuto sotto ghiaccio, il quale, come è noto, mentre impedisce lo sviluppo dei batteri non distrugge, a guisa del calore, i fermenti solubili. Giacchè anche a prescindere dalla questione dei fermenti, mi piace riferire integralmente a tale riguardo le parole del mio maestro, prof. Concetti (15°): « La clinica aveva più volte rilevato come molti bambini prosperino meglio col latte crudo che non col latte bollito. Il mio assistente dott. Spolverini ha studiato in due bambini sani di tre mesi il ricambio materiale e la putrefazione intestinale, nutrendoli in periodi diversi con latte di vacca crudo e bollito. Ora, l'utilizzazione dell'Az. e dei grassi era molto maggiore col latte crudo, mentre con questo i prodotti della putrefazione intestinale erano molto più scarsi (un terzo) di fronte a quando si dava il latte bollito. Molte osservazioni recenti non si peritano di attribuire al latte maternizzato, ed alle alte temperature a cui lo si sottopone, i vari casi di scorbuto infantile osservati in questi ultimi tempi (Comby, Jemma, ecc.). La sterilizzazione del latte ha segnato, non v'ha dubbio, un grande progresso nell'allattamento artificiale perchè ha tolto di mezzo le molte cause di infezione che col latte si potevano procurare. Ma è logico il pensare che se fosse possibile impedire in altro modo l'inquinamento del latte, verrebbe con ciò stesso eliminata la necessità della sterilizzazione. In una parola si dovrebbe imitare la chirurgia che ha sostituito l'asepsi all'antisepsi, non che la natura che col seno fornisce al lattante un latte sterile, ma non sterilizzato... È naturale per altro che fino a che non siasi potuto ottenere questo *desideratum* di potere avere un latte asettico, od almeno contenente un numero

di batterii compatibili colla salute di chi lo prende, converrà sempre insistere sulla sterilizzazione ».

Ora è chiaro che avendo io ottenuto tali risultati doveva sorgere subito una nuova questione, più interessante di tutte dal lato pratico, la quale è stata per me oggetto dello studio seguente.

Parte III.

È possibile in pratica ottenere che il latte di vacca e di capra (il più usato) contenga tutti i fermenti del latte di donna?

A nessuno può sfuggire l'alta importanza di questo argomento: giacchè dal momento che il latte non è un semplice alimento, ma anche un liquido attivo, dal momento che il latte di donna dovrebbe agire anche come fermento, dimostrato poi che questo è attivo, ed infine provato che questi fermenti, contenuti nel latte, non sono specifici nel senso assoluto ed esclusivi soltanto di alcune specie di animali, è chiaro che per potere fare un allattamento artificiale il più simile possibile a quello naturale occorre, almeno secondo le recenti vedute, che il latte dell'animale contenga anche tutti i fermenti del latte di donna. In tale modo soltanto sarà possibile alla ipotesi emessa da Escherich ottenere la sanzione clinica, e solo allora se saremo nel vero potremo dire di avere finalmente risoluta la questione dell'allattamento artificiale, di avere cioè ottenuto il vero latte maternizzato?

Un mezzo a prima vista molto semplice sembrerebbe dovere risolvere la questione nella pratica: giacchè basterà aggiungere nelle debite proporzioni al latte munto quel fermento che fosse deficiente ovvero mancante, perchè così lo scopo fosse raggiunto. Ma senza tener conto che noi in tale modo faremmo completamente astrazione dalle trofo-zimasi (che certamente rappresentano la parte più importante nella questione dell'importanza dei fermenti solubili nel latte), senza tener conto del fatto che è molto diverso, in specie per gli effetti, aggiungere il fermento in vitro a quello segregato addirittura dall'animale, senza tener conto infine delle possibili variazioni, anche dannose, che potrebbero derivare alla composizione fisico-chimica del latte pel solo fatto dell'aggiunta bruta del fermento; è necessario tener presente come molti fermenti e specialmente quelli peptonizzanti e saponificanti (che sono del maggiore interesse) aggiunti al latte, lo rendono di un sapore talmente disgustoso da riuscire poi impossibile a prenderlo. Quindi per molteplici ragioni tale mezzo non

è davvero praticamente utile. D'altra parte è pure evidente che per raggiungere tale intento non è davvero un mezzo adottabile quello da me adoperato sperimentalmente per studiare la specificità dei vari fermenti, vale a dire cambiare il vitto erbivoro alla capra ed alla vacca, e ciò pei grandi inconvenienti che si riscontrano nella pratica e per le modificazioni nella composizione chimica del latte stesso. Occorreva quindi escogitare un mezzo di facile applicazione. Pensai allora che si poteva tentare quello di dare a mangiare a questi animali insieme al solito vitto anche dei fermenti, e naturalmente quelli di cui erano privi, e veder poi se si trovavano anche nel latte.

A tale riguardo più mezzi avevo disponibili per tentare l'esperimento: vale a dire somministrare diastasi o vegetali, o animali o batteriche. Peraltro, trattandosi di esperienze che si dovevano condurre sulle capre e sulle vacche, io, come è naturale, scelsi le diastasi vegetali e volli cominciare le ricerche dall'amilasi, che è appunto il fermento, che più differenzia fino ad ora il latte di donna, da quello di capra e di vacca.

Ed ora ecco il procedimento da me tenuto in questo genere di ricerche:

Una vacca ed una capra, i cui latti esaminati più volte per riguardo ai fermenti nel mentre contenevano tutti gli altri erano invece come sempre privi sia del fermento amilolitico che di quello idratante del salolo, furono continuate a tenere al solito loro vitto erbivoro, ma contemporaneamente fino dal giorno 10 settembre 1901 mattina e sera veniva loro somministrata in due volte da mezzo ad un chilogramma circa d'orzo nel periodo di germogliazione alla capra, e due chilogrammi e mezzo circa alla vacca, della quale cosa ambedue gli animali sono ghiottissimi. È noto difatti che l'amilasi vegetale è sparsa per tutte le piante le quali per suo mezzo possono utilizzare l'amido sia quello recentemente formato dalle foglie, sia quello di riserva contenuto nei tuberi, bulbi, ecc., ed è anche noto che il luogo in cui l'amilasi si forma in maggiore quantità è certamente il seme nel momomento della germogliazione.

È questa appunto è la ragione che mi ha indotto a sperimentare coll'orzo, il quale veniva posto prima a germogliare eppoi ad epoca opportuna veniva, come è stato accennato, somministrato agli animali da esperimento. Non occorre che io entri qui in più minuti particolori circa la somministrazione di tale orzo, ed invece esporrò subito nella seguente tabella i risultati degli esami ottenuti sul latte della capra e della vacca tenute a questo vitto per riguardo ai fermenti solubili. Mi limiterò a riferire per esteso soltanto quelli riguardnnti il fermento dell'amido e del salolo (i più interessanti per noi in questo momento per le ragioni avanti esposte), giacchè le ricerche eseguite contemporaneamente anche su tutti gli altri fermenti noti non ci hanno dimostrato alcuna variazione apprezzabile, cosa che del resto è facile a comprendersi; e così pure sarà utile accennare fino da questo momento che anche il latte per riguardo ai suoi componenti chimici ed alle loro proporzioni si è mantenuto costante, durante questo genere di esperimento

α) Fermento

TABELLA XXVI. — *Latte di capra erbivora*

Numero d'ordine	DATA	Durata della somministrazione dell'orzo	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Quantità di salda di amido aggiunta (2 %)
1	13 settembre 1901	3 giorni	10 cmc.	—	2 1/2 cmc.
2	Id.	id.	id.	—	5 cmc.
3	15 settembre 1901	5 giorni	id.	..	1 cmc.
4	Id.	id.	id.	..	2 1/2 cmc.
5	Id.	id.	id.	..	5 cmc.
6	17 settembre 1901	7 giorni	id.	—	3 cmc.
7	Id.	id.	id.	—	5 cmc.
	19 settembre 1901	Si sospende l'orzo			
8	21 settembre 1901	..	10 cmc.	—	1 cmc.
9	Id.	..	id.	—	2 cmc.
	22 settembre 1901	Si riprende l'orzo			
10	24 settembre 1901	2 giorni	10 cmc.	..	1 cmc.
11	Id.	id.	id.	..	3 cmc.

TABELLA XXVII. — *Latte di vacca erbivora*

Numero d'ordine	DATA	Durata della somministrazione dell'orzo	Quantità di latte adoperato	Esame culturale	Quantità di salda di amido aggiunta (2 %)
1	21 settembre 1901	2 giorni	5 cmc.	—	1 cmc.
2	Id.	id.	id.	—	2 1/2 cmc.
3	Id.	id.	id.	—	5 cmc.
4	Id.	id.	10 cmc.	—	id.
5	23 settembre 1901	4 giorni	5 cmc.	..	2 1/2 cmc.
6	Id.	id.	id.	..	5 cmc.
	25 settembre 1901	Si sospende l'orzo			
7	27 settembre 1901	..	5 cmc.	—	2 cmc.
8	Id.	..	id.	—	1 cmc.

ilolitico.

on aggiunta di orzo in germoglio.

Durata della ermanenza in termostato	Temperatura	Reazione Latte crudo Eritrodestrina	Reazione Latte crudo Acrodestrina	Reazione Latte cotto Eritrodestrina	Reazione Latte cotto Acrodestrina	Osservazioni
24 h	40°	+	..	—	..	
38 h	40°	+	.	—	..	
24 h	40°	..	+	..	—	3 h sotto ghiaccio.
24 h	40°	..	+	..	—	
36 h	40°	+	..	—	..	
24 h	40°	..	+	..	—	
40 h	40°	..	+	..	—	
24 h	40°	—	..	—	..	
40 h	40°	—	..	—	..	
24 h	40°	..	+	..	—	4 h sotto ghiaccio.
24 h	40°	..	+	..	—	

n aggiunta di orzo in germoglio.

Durata della ermanenza in ermostato	Temperatura	Reazione Latte crudo Eritrodestrina	Reazione Latte crudo Acrodestrina	Reazione Latte cotto Eritrodestrina	Reazione Latte cotto Acrodestrina	Osservazioni
24 h	40°	..	+	..	—	5 h sotto ghiaccio.
32 h	40°	..	+	..	—	
38 h	40°	+	..	—	..	
40 h	40°	..	+	..	—	
18 h	40°	..	+	..	—	
36 h	40°	..	+	..	—	
32 h	40°	—	..	—	..	
28 h	40°	—	..	—	..	

β) **Fermento i**

TABELLA XXVIII. — *Latte di ra*

Numero d'ordine	DATA	Durata della somministrazione dell'orzo	Quantità di latte adoperato	Esame culturale
1	13 settembre 1901	3 giorni	5 cmc.	—
2	Id.	id.	id.	—
3	15 settembre 1901	5 giorni	id.	..
4	Id.	id.	id.	..
5	17 settembre 1901	7 giorni	id.	—
	19 settembre 1901	Si sospende l'orzo		
6	21 settembre 1901	..	5 cmc.	—
7	Id.	..	id.	—

TABELLA XXIX. — *Latte di ra*

Numero d'ordine	DATA	Durata della somministrazione dell'orzo	Quantità di latte adoperato	Esame culturale
1	21 settembre 1901	2 giorni	5 cmc.	—
2	Id.	id.	id.	—
3	23 settembre 1901	4 giorni	id.	..
4	Id.	id.	id.	..
	25 settembre 1901	Si sospende l'orzo		
5	27 settembre 1901	..	5 cmc.	—
6	Id.	..	id.	—

…e del salolo.

…rora con aggiunta di orzo in germoglio.

Quantità di salolo aggiunto	Durata della permanenza in termostato	Tempera-tura	Reazione		Osservazioni
			Latte crudo	Latte cotto	
…mmi 0. 25	24 h	40°	?	—	
id.	36 h	40°	?	—	
id.	24 h	40°	+	—	3 h sotto ghiaccio.
id.	36 h	40°	+	—	
id.	30 h	40°	+	—	
…mmi 0. 25	30 h	40°	?	—	
id.	26 h	40°	—	—	

…rora con aggiunta di orzo in germoglio.

Quantità di salolo aggiunto	Durata della permanenza in termostato	Tempera-tura	Reazione		Osservazioni
			Latte crudo	Latte cotto	
…mmi 0. 25	24 h	40°	—	—	5 h sotto ghiaccio.
id.	40 h	40°	?	—	
id.	30 h	40°	+	—	
id.	28 h	40°	+	—	
…mmi 0. 25	28 h	40°	—	—	
id.	40 h	40°	—	—	

Sono molto evidenti le conclusioni che si possono trarre dalle esperienze riferite nella tabella precedente. È chiaro difatti che dando a mangiare sia alle capre che alle vacche l'amilasi contenuta nell'orzo, questa passa nel latte ove si ritrova energica, almeno dalle esperienze eseguite, quasi allo stesso modo di quella contenuta nel latte di donna. Contemporaneamente ad essa si riscontra nei latti degli animali così trattati anche il fermento idratante, che trasforma il salolo in acido fenico ed in acido salicilico, però dotato di un potere meno attivo di quello di donna. La constatazione di quest'ultimo fatto potrà sembrare strana a prima vista, giacchè mentre si comprende che l'animale mangiando diastasi amilolitica questa poi si riscontri nel latte, non si comprende d'altra parte perchè comparisca anche, quasi contemporaneamente, il fermento idratante del salolo. Evidentemente l'uno e l'altro fermento devono avere qualche cosa di comune, come è stato dimostrato in precedenza, e difatti anche in tutti i latti degli animali esaminati, quando manca l'uno. manca anche l'altro e viceversa: una plausibile spiegazione del modo di comportarsi dei medesimi potrebbe a mio avviso trovarsi nel fatto che ambedue tali fermenti sono idratanti ed appartengono alla stessa classe. Del resto a prescindere dall'interpretazione di un simile fatto e rimanendo nel campo delle cose provate dobbiamo anche dire che le osservazioni da me eseguite ci hanno dimostrato pure che il fermento mangiato si ritrova assai presto nel latte dell'animale stesso. Non sono invero state praticate ricerche minuziose collo scopo di stabilire il tempo minimo a ciò occorrente, trattandosi in questa serie di esperienze di osservazioni di indole generale, ma peraltro possiamo assicurare che certo entro le 48 ore nel latte essa si rinviene.

D'altra parte abbiamo anche potuto constatare come relativamente molto presto (tra le 24-48 ore) tale fermento venga a mancare nel latte medesimo, quante volte se ne sospenda l'introduzione col cibo.

La constatazione di tutti questi fatti così evidenti nel mentre servono ad illustrare varie questioni intorno a questi fermenti. servono anche di base a tutto quello che si potrà e si dovrà fare in seguito su tale argomento. Così è chiaro che sarà necessario ricercare come si comportano, oltre che l'amilasi vegetale (che rappresenta certo il mezzo più pratico e più semplice) anche quella animale e quella batterica, somministrata ai vari animali; ed inoltre insieme all'amilasi occorrerà ricercare anche il modo di comportarsi degli altri fermenti in genere, ed in specie di quelli di maggiore interesse (proteolitici, e lipolitici). Intanto però risulta dimostrato

come noi con un mezzo semplicissimo possiamo dare al latte degli animali alcuni fermenti che contiene il latte di donna, fino ad ora noti, e dotati presso a poco della stessa attività (almeno per ciò che risulta dalle esperienze di laboratorio), d'onde la speranza di vantaggi nella pratica, giacchè questo sarà un altro mezzo da porre in opera per la correzione del latte stesso, per renderlo secondo le recenti vedute possibilmente più confacente ai poteri digestivi ed assimilatori del bambino. È tutto un insieme di nuovi studî, che si offrono alle ricerche dei pediatri; quello che finora è stato fatto è, come si vede, ben poca cosa (come ha detto il mio maestro prof. Concetti), ma è tanto che ci conforta a proseguire, perchè è in armonia a tutte le osservazioni cliniche e sperimentali, a tutto il dottrinale della scienza moderna.

Inoltre la dimostrazione che il fermento può essere mangiato ed assorbito dall'animale, senza che durante tutto questo lavorio esso venga distrutto o per lo meno attaccato sensibilmente nella sua vitalità e nella sua energia, serve anche ad illustrarci la natura e la biologia di questi fermenti.

Del resto è noto come l'opoterapia siasi avantaggiata di questa proprietà che hanno talune sostanze analoghe ai fermenti di passare inalterate per la trafila gastrica (tiroide, ipofisi, capsule surrenali, estratti organici diversi, ecc.).

Il fatto poi che esso, poco dopo mangiato, si può ritrovare attivo nel latte, contribuisce a provare come questo debba necessariamente venire introdotto nel torrente circolatorio e secreto poi anche per mezzo della ghiandola mammaria — oltre che anche dalle altre ghiandole: — con ciò e con quello che già abbiamo avuto occasione di vedere a proposito della non specificità od esclusività dei fermenti a seconda della diversa provenienza dei vari latti, si viene, a mio avviso, a portare un sicuro contributo alla risoluzione della interessante questione se i fermenti contenuti nel latte sono prodotti di sola secrezione specifica della ghiandola mammaria, ovvero anche di escrezione. Difatti fino ad ora da molti (Moro, Marfan, ecc.), si riteneva che tali fermenti dipendessero da una secrezione specifica della ghiandola mammaria, basandosi specialmente su alcune ricerche tra cui la principale che, ad esempio, l'amilasi contenuta nel sangue circolante è meno energica di quella contenuta nel latte, e che mentre nel sangue di vacca si ritrova attivo il fermento amilolitico, non si rinviene invece nel latte da essa prodotto. Per altro i risultati delle nostre esperienze rendono evidentemente necessaria una modificazione alle vedute di questi osservatori; giacchè noi abbiamo

dimostrato che dando a mangiare un fermento ad un animale esso si rinviene attivo nel latte, che prima ne era sfornito: ciò dimostra in modo assai chiaro che la ghiandola mammaria in tale caso ha funzionato da organo escretore. Per questo solo fatto noi non vogliamo affermare che i fermenti che si rinvengono nel latte sono prodotti di sola escrezione (sebbene fino ad ora nel latte si sieno rinvenuti soltanto quelli che si ritrovano anche nel sangue), giacchè, le ricerche di alcuni autori dimostrano come tale ipotesi non possa essere vera in senso assoluto; ma invece a mio avviso si deve ritenere, anche dopo tutto quello detto in precedenza a proposito del cambiamento di vitto, che tali fermenti sono in massima parte prodotti di escrezione (difatti per non citare altri esempi anche l'urina ne contiene molti di quelli rinvenuti nel latte, e dotati della stessa energia) e pel resto prodotti di secrezione specifica, tanto è vero che basandosi anche sulle ricerche fino ad ora note a proposito di tali fermenti solubili non solo nel latte ma anche negli altri liquidi o secrezioni dell'organismo umano, si deve pensare che la funzione escretrice prevalga sensibilmente nella funzione secretrice. Ed inoltre una volta potesse venire dimostrato che questo fermento saccarificante l'amido, che si trova nel latte, è quello stesso che circola nella massa sanguigna, e che in parte almeno è un fermento escretivo, potrà trovare, anche all'infuori di quella accennata in precedenza, un'altra plausibile spiegazione la presenza di tale fermento nel latte (mentre questi di sostanze amidacee è privo) senza dovere più ricorrere al supposto « gaspillage » di Escherich, pensando che il fermento saccarificante del fegato, che torna a trasformare il glicogene in glucosio, è identico a quello che si trova nella massa sanguigna (Armand Gautier) (16).

Da ultimo è evidente che intanto anche dal punto di vista pratico la produzione di un latte contenente un fermento amilolitico molto energico (il solo del quale io mi sia fino ad ora occupato) può riuscire di notevole utilità, in quanto che i bambini, nutriti con un tale latte, non fosse altro potranno, alla stessa guisa di quelli nutriti al seno, digerire più facilmente, anche durante i primi mesi di vita, le sostanze amidacee, e quindi potranno venire molto presto nutriti con le minestrine e le pappette con vantaggio notevole in particolare modo di quei casi, in cui le madri o hanno poco latte, o sono costrette per svariate cagioni ad interrompere l'allattamento.

Conclusioni.

1. Nel latte della donna e dei varî animali si trovano in quantità maggiore o minore numerosi fermenti solubili, rappresentanti tutte e quattro le categorie dei fermenti della classificazione del Duclaux e precisamente:

a) Il fermento *tripsinico* si rinviene sempre dotato di molta attività nel latte degli animali esaminati (vacca, capra, cagna) ed in grado minore nel latte di donna e di asina;

b) Il fermento *pepsinico* esiste egualmente, ma esso si presenta in genere meno energico;

c) Il fermento *amilolitico* si trova sempre attivo allo stesso grado nel latte di donna e di cagna, è sempre mancante nel latte di capra e di vacca; si ritrova talune volte, ma meno energico, nel latte di asina ove spesso anche è mancante;

d) Come l'amilolitico, anche il fermento *idratante*, che trasforma il salolo in acido fenico ed acido salicilico, esiste sempre nel latte di donna e di cagna, si presenta molto meno energico nel latte di asina, e manca sempre nel latte di vacca e di capra;

e) La *lipasi*, allo stesso modo del fermento proteolitico, si è rinvenuta in grado più o meno attivo in tutti i latti esaminati;

f) L'*ossidasi* si manifesta in una maniera opposta al fermento dell'amido e del salolo, perchè essa è attivissima nel latte di vacca e di capra ed invece è appena evidente nel latte di donna e di cagna;

g) Il fermento *glucolitico* si trova, benchè in grado differente, in ciascuno dei latti esaminati.

2. Il latte pertanto deve essere considerato non come una semplice miscela di sostanze chimiche nutritive, ma come un liquido contenente anche elementi biochimici attivi.

3. I varî latti da noi studiati sotto il punto di vista dei fermenti si possono raggruppare in due grandi categorie: quelli provenienti da animali omnivori (donna, cagna) e quelli provenienti da animali erbivori (vacca, capra): e mentre nei primi si trovano tutti i fermenti sino ad ora studiati, nei secondi invece taluni fanno difetto.

4. Tali fermenti solubili del latte non si devono considerare come specifici, o per meglio dire come esclusivi di ciascuna specie di animale, perchè modificando opportunamente il genere di alimentazione dell'animale lattifero si può giungere a far comparire nel latte, per esempio di capra, tutti i fermenti contenuti nel latte di donna e di cagna.

5. Per ottenere in pratica un latte di vacca o di capra fornito degli stessi fermenti di quello di donna, è sufficiente di somministrare all'animale insieme al vitto solo alcuni di quei fermenti di cui il suo latte è privo.

6. I fermenti contenuti nel latte sembrano pertanto legati intimamente al genere di alimentazione dell'animale lattifero, ed essi devono essere considerati in gran parte come fermenti di eliminazione e pel resto come fermenti di secrezione specifica. In tale modo noi possiamo renderci perfettamente ragione della loro presenza e del loro diverso comportamento.

7. È evidente infine come, dopo tutto quello fino ad ora esposto, sarebbe preferibile di poter somministrare al bambino il latte crudo raccolto asetticamente e così conservato sotto ghiaccio, il quale mentre impedisce lo sviluppo dei batteri, non distrugge a guisa del calore tutte le proprietà attive del latte stesso.

***

Sicchè, riassumendo, si può dire che dato il complesso di tutti questi risultati ottenuti, appare oramai evidente quale sia la via veramente razionale e più pratica da seguire nello studio di questo interessante argomento. Imperocchè basandoci sui fatti oramai acquisiti alla scienza, mentre da un canto rimangono abbastanza illustrate e una parte delle premesse della nuova teoria di Escherich ed alcune questioni relative all'allattamento artificiale, dall'altro canto è lecito sperare di potere ottenere intanto un latte animale uguale al latte muliebre, per ciò che riguarda la presenza delle *zimasi* sino ad ora conosciute, le quali molto probabilmente ne rappresentano solo una parte. Con ciò non intendiamo dire che rimane dimostrata la teoria di Escherich, ma in seguito gli studi *specialmente clinici* diretti in questo senso serviranno non fosse altro a provare l'importanza e l'ufficio vero delle zimasi del latte, ed inoltre se la sola presenza di tutte le zimasi stesse nel latte animale renda questo veramente migliore per l'allattamento artificiale, e se possano esse e fino a qual punto darci un succedaneo vero del latte materno.

Roma, gennaio 1902.

LETTERATURA.

1. Escherich. Wiener klinische Wochenschrift, n. 51, 20 dic. 1900.
2. XIII Congrès international de Paris, août 1900. *Les doctrines de l'allaitement artificiel.*
3. Marfan. *Allaitement naturel et allaitement artificiel. Hypothèses sur le rôle des zymases du lait.* La Presse méd., n. 3, 9 janvier 1901. Revue mensuelle des maladies de l'enfance, février 1901.
4. Béchamp. *Sur la zymase du lait des femmes* (Comptes-Rendus, volume 96, 1883).
5. Bouchut. *Hygiène de la première enfance*, 1885.
6. Moro. Jahrbuch für kinderteilkunde. Bd. XLVIII, 1898, und Bd. LIII, 1901.
7. Nobécourt et Mercklen. *Un ferment du lait de femme et du lait d'ânesse.* Revue mensuelle des maladies de l'enfance, mars 1901. Comptes-Rendus de la Soc. de Biologie, février, 1901.
8. Luzzatti e Biolchini. Atti del IV Congresso italiano di pediatria. Firenze, 15-20 ottobre 1901.
9. Duclaux. Traité de Microbiologie, tome II. Diastases, toxines et venins. Paris, 1898-1900.
10. Baboch e Russel citati da Ioannensöhn. Jahrbuch für kinderteilkunde. Bd. LIII.
11. Fermi und Pernossi. *Ueber die Enzyme.* Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh., XVIII, 1894.
12. Jemma. *Sulla digestione artificiale del latte.* Clinica medica, n. 6, 1899.
13. Hanriot. Comptes-Rendus de la Soc. de biologie, anni 1897-98-99.
14. Rossi. *Le fermentazioni.* Roma, Società editrice Dante Alighieri.
15. Concetti. *Sull'atrofia primitiva infantile e sui vari generi di allattamento dal punto di vista della nuova teoria dei fermenti solubili.* Policlinico, sezione pratica, 1901.
16. Armand Gautier. Leçons de chemie biologique, 1897, pag. 385.

Istituto d'Igiene della R. Università di Napoli

Sull'agglutinamento del B. coli

per il dott. **A. di DONNA.**

Il perfezionamento della tecnica originale della reazione di Widal, dovuto essenzialmente alle importanti osservazioni sperimentali succedutesi nel volgere di pochi anni, va rendendo la sierodiagnosi del tifo sempre più applicabile alla clinica. Le conoscenze, perciò, che in oggi si hanno dell'agglutinazione del bacillo di Eberth e dei limiti nei quali essa deve essere adoperata, sono, fuor di dubbio, abbastanza precise. Lo stesso non si può dire per il *b. coli*, quantunque si senta la necessità di poter stabilire, in certe affezioni acute e croniche di origine intestinale, quanta parte vi pigli il bacillo delle fecce.

Io riporterò in seguito un caso di siero-diagnosi praticato in questo Istituto, in cui la reazione di Widal fu di grande aiuto nello accertare la diagnosi clinica, rispondendo pienamente allo scopo.

Assodato che il *b. coli* non è un innocuo parassita dell'intestino, e che i prodotti del suo ricambio agiscono come le tossine di tutti i batterii patogeni di cui si esalta la virulenza, ne deriva la necessità di studiare bene questo microrganismo anche in rapporto alla siero-diagnosi.

Al Gruber (1) spetta il merito di aver fatto le prime osservazioni sullo agglutinamento del *b. coli* col siero di sangue di animali immunizzati con lo stesso bacillo. Le pubblicazioni fatte dopo si possono riassumere così: Achard (2), iniettando alle cavie 8 varietà di *b. coli*, ottenne da 5 soltanto un siero agglutinante 1:10. In base di tali risultati il Bensaude (2) emise l'opinione che il siero di sangue di animali infettati con *colibacilli* difficilmente acquista il potere agglutinante. Fodor e Riglor (3) ebbero con ricerche

(1) Wiener Klin. Wochenschrift, 1896.
(2) Presse médicale, 1896.
(3) Centralblatt für Bakteriologie, 1898.

sulle cavie una forte *pseudo-agglutinazione* 1:1 e una debole *pseudo-agglutinazione* 1:50. Wolf-Sidney (1), facendo i suoi esperimenti anche sulle cavie, potette agglutinare col siero di sangue il solo bacillo, col quale l'animale venne immunizzato. Van de Velde (2), avendo immunizzato con *b. coli* un cavallo, riferì che, tra 25 varietà di *b. coli*, 4 non venivano agglutinate dal siero di sangue di quello animale. Rodet (3) sperimentò sopra un grande numero di *b. coli* di diversa provenienza, e fece notare che i *b. coli*, i quali erano stati coltivati per diversi mesi ed anni sull'agar si agglutinavano bène, e che, al contrario, i colibacilli isolati di recente non possedevano tale proprietà. Radzievsky (4) affermò: 1° che di fronte all'agglutinazione non esiste per diversi campioni di *b. coli* un modo unico di comportarsi; 2° che, iniettando una data varietà di *b. coli* agli animali, da questi si può ricavare un siero, che agisca sopra un grande numero di campioni, oppure che rimanga pressapoco specifico; 3° che un dato siero può agglutinare solo alcune varietà tra molte, che biologicamente si comportano nello stesso modo. Rothberger (5) non potette confermare i risultati del Rodet, ma venne a conclusioni che erano d'accordo con quelle del Radzievsky. Iatta (6) vide che il siero di sangue di 18 animali, infettati con 15 differenti varietà di *b. coli*, dava gli stessi risultati del sangue di animali immunizzati col bacillo del tifo, e, cioè, un potere agglutinante specifico, quindi, non potette constatare i fatti notati da Achard, Fodor e Rigler. Inoltre, isolò dalle fecce dello stesso individuo, in tempi diversi, *b. coli*, che mostravano proprietà differenti in riguardo all'agglutinamento, ipotesi già precedentemente emessa da Wolf. Ammise, però, che vi siano delle specie di *b. coli* che si influenzino reciprocamente.

Si può dire dunque che, mentre la maggioranza degli autori, i quali si sono occupati dell'agglutinamento del b. del tifo, è quasi d'accordo, che il siero di sangue di un animale iniettato col bacillo di Eberth agglutini costantemente il bacillo col quale l'animale venne infettato, lo stesso non vale per il *b. coli*.

Io ho ragione di ritenere, come appare dal breve riassunto riportato, che la causa principale di ciò stia nello scarso numero di ricerche finora fatte su di un argomento che offre tanta ampiezza di osservazioni e di indagini.

Allo studio dell'agglutinamento del *b. coli* vanno annessi i seguenti importanti quesiti:

1° Ricercare l'infuenza che l'aumento del potere patogeno dei batteri del gruppo-coli ha sulla siero-reazione;

2° Stabilire se una data infezione sia dovuta al *b. coli*;

(1) Ibidem, 1899, vol. XXV.
(2) Ibidem, 1898.
(3) Journal de Physiologie et pathol. par Bouchard e Chauveau, 1899.
(4) Centralblatt für Bakteriologie, vol. XXVI.
(5) Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten. vol. XXXIV.
(6) Ibidem.

3° Indagare mercè la siero-reazione quali caratteri di affinità e di differenziamento presentano i coli-bacilli tra loro e il b. del tifo;

4° Studiare la proprietà agglutinante del siero nelle infezioni miste sperimentali.

I.

Utilizzai per tali ricerche un grande numero di *b. coli* di diversa provenienza, isolati dalle fecce di individui sani e tifosi e dall'intestino di animali (cavie, conigli, cani) sottoposti ad altri esperimenti nell'Istituto. Il mio lavoro va diviso in due tempi: nel primo mi servii di bacilli isolati di recente; nel secondo, invece, anche di bacilli isolati da parecchi mesi.

Una prima serie di 12 campioni di *b. coli* proveniva: 1 dall'intestino di una cavia, 1 dalle fecce di un cane, 4 dalle fecce di tifosi, 1 dalle fecce di una bambina dissenterica, 1 dal cuore all'autopsia di un individuo morto per infezione tifosa, 1 dall'acqua, 3 da fecce di individui sani, di cui uno andava spesso soggetto ad enterite putrida. Tutti davano fermentazione lattica, producevano indolo, coagulavano il latte, scoloravano la laccamuffa nei terreni zuccherati e coltivati sulle patate formavano uno strato spesso giallastro. Non venivano agglutinati da siero di sangue di conigli normali. Io esclusi dalle mie ricerche tutti quei microrganismi, che non presentavano tutte le note reazioni del *b. coli*.

Il coefficiente minimo agglutinante del siero, di cui ho tenuto conto, è di 1:50; però, non ho trascurato quello di 1:30, che citerò qualora credo che possa avere il suo valore. Nel far ciò sono stato spinto dal criterio, derivante da osservazioni pubblicate da altri, i quali affermano che il siero di sangue di conigli sani può agglutinare il *b. coli* nel rapporto di 1:30; fatto che io ho potuto riscontrare in un solo animale.

Di un primo campione, *b. coli* A, isolato dall'intestino di una cavia, saggiai il potere patogeno con inoculazione in cavie, e con passaggi ripetuti nel corpo di questi animali ne accrebbi la virulenza sino a produrre la morte del coniglio con cc. 0.01 $^0/_0$ del peso del corpo. Incominciando a inoculare dosi minime, 0.001 $^0/_0$ di coltura in brodo tenuta a 37° C. per 24^h, immunizzai tre conigli sino a far loro tollerare 10 cmc. di coltura del bacillo, di cui mantenni costante la virulenza nel modo indicato. Col siero di sangue degli animali po-

tetti agglutinare nel rapporto di 1:30 il bacillo, nè mi riuscì di superare tale proporzione. Sugli altri campioni, di cui ho fatto cenno, il siero non ebbe alcuna influenza.

Di un secondo campione, *b. coli B*, isolato dalle fecce di un cane, esaltai la virulenza sino ad uccidere il coniglio con quattro anse di coltura su agar. Seguendo il processo indicato, immunizzai altri tre conigli sino a raggiungere la dose complessiva di 8 cmc. Il siero di sangue degli animali non agglutinò mai tali *b. coli*, nè gli altri.

Con un terzo campione, *b. coli C*, isolato dalle mie fecce e relativamente avirulento, immunizzai ugualmente tre conigli. Il siero di sangue fatto agire sullo stesso bacillo e sugli altri campioni dette sempre prove negative.

I risultati di questa prima serie di ricerche confermerebbero l'ipotesi di Bensaude, emessa sugli esperimenti di Achard, che il sangue di animali infettati con colibacilli difficilmente acquista un potere agglutinante. Ma, piuttosto che dilungarmi in commenti, preferisco riferire l'altra serie di ricerche, che, se non contradice tale asserzione, ne toglie certo gran parte del valore. Piuttosto dirò. che la virulenza acquistata dai campioni di *b. coli* adoperati non è valsa, nè a diminuire, nè ad aumentarne il potere agglutinante, essendo in ciò d'accordo con Rodet, Rothberger ed altri.

II.

Gli esperimenti di questa seconda serie furono iniziati 8 mesi dopo. Tre *b. coli* tra quelli innanzi citati: *b. coli* n. 1, isolato dalle fecce di un tifoso venuto a morte; *b. coli* n. 2, isolato dalle fecce della bambina dissenterica; *b. coli* n. 3, tolto dalle fecce di un individuo affetto di enterite putrida, vennero iniettati, all'epoca del loro isolamento, nel sangue di tre conigli nella dose di 2 cmc. Dopo 48 ore gli animali erano fortemente diminuiti di peso (300-400 grammi); essi deperirono poi progressivamente sino alla morte avvenuta da 12 a 21 giorni dalla infezione. Il siero di sangue, provato diverse volte, non agglutinava nel rapporto di 1:50 il rispettivo bacillo.

Tali campioni vennero poi coltivati per 10 mesi sull'agar, che veniva rinnovato ogni 5-6 giorni.

Nel far ciò fui spinto da due criteri: il primo, cioè, di adoperare bacilli isolati da fecce umane; il secondo di controllare le ri-

cerche del Rodet, ossia sulla proprietà che acquista un *b. coli* con l'invecchiarsi sul terreno di coltura indicato.

Dico in generale, che inoculando tali bacilli, coltivati per diverse generazioni sull'agar, a dosi progressivamente crescenti, ottenni dai conigli un siero avente un alto potere agglutinante. Immunizzai nove conigli (tre per ogni campione). Col *b. coli* n. 1 ottenni un siero attivo 1:5000; col *b. coli* n. 2 e 3, 1:20000. Forzando l'immunizzazione dei conigli non riuscii mai a superare tali rapporti, che vengono raggiunti con 6-7 cmc. di coltura in brodo, inoculati a dosi progressivamente crescenti, in un periodo di tempo, che non va mai al di là dei tre mesi. Ciò conferma, che la siero-reazione non ha rapporto con lo stato di immunità, come già molti autori hanno dimostrato.

I tre campioni di colibacillo reagivano tra loro nel seguente modo:

TABELLA I.

	Potere agglutinante del siero	B. coli N. 1	B. coli N. 2	B. coli N. 3
B. coli N. 1	1:5000	1:5000	nulla	1:5000
B. coli » 2	1:20000	1:100	1:20000	nulla
B. coli » 3	1:20000	nulla	nulla	1:20000

Ottenuti così dei sieri molto attivi, volli ricercare, se, aumentando la virulenza di uno di tali bacilli, *b. coli* n. 2, venisse a modificarsi la sua agglutinabilità. Le cavie morivano, con l'inoculazione di 2 cmc. di coltura in brodo °/₀ del loro peso iniettati nel peritoneo. Ne accrebbi il potere patogeno sino a 0.50 cmc. per cento. Occorsero per ciò due mesi circa, dopo i quali, tranne la virulenza rinvigorita, uno sviluppo più rigoglioso, un movimento più vivace, nulla il microrganismo aveva guadagnato, nè perduto in rapporto all'agglutinamento, poichè, come l'altro avirulento, messo in contatto del siero reagiva nello stesso rapporto.

Le mie (1) ricerche sul tifo, condotte con l'identico criterio, diedero risultati non dissimili malgrado l'affermazione di Mills (2) ed altri, che le colture dotate di minor potere patogeno siano le più sensibili all'azione del siero agglutinante.

(1) Giornale internazionale delle scienze mediche, 1902.
(2) Clinique de Bruxelles, 1896.

Col *siero-coli* n. 1 e 3 potetti anche agglutinare nella diluizione di 1:200 e 1:300 un *b. coli*, esistente nella collezione dell'Istituto, isolato 9 mesi prima dalle fecce di un cane.

Inoltre io feci agire quei sieri su altri 12 campioni di *b. coli* di diversa provenienza, come risulta dalla seguente tabella:

TABELLA II.

PROVENIENZA	Siero-coli N. 1 1:50 e 1:100	Siero-coli N. 2 1:50 e 1:100	Siero-coli N. 3 1:50 e 1:100
Fecce tifose N. 1	—	+	—
Id. » 2	—	+	+
Id. » 3	+	—	—
Id. » 4	—	—	—
Fecce individui sani N. 1	+	—	—
Id. » 2	+	—	+
Id. » 3	—	—	—
Id. » 4	—	—	—
Acqua	—	—	—
Cane	—	—	—
Terreno	—	—	—
Cavia	—	—	—

Le ricerche, i cui risultati ho riassunto in questa seconda tabella, furono fatte allo scopo di rilevare se tra i colibacilli, adattati alle più differenti condizioni di nutrizione e di vita nell'ambiente esterno, ve ne fossero di quelli agglutinabili. Difatti, due tra essi segnati col + fecero notare un agglutinamento di 1:100 con precipitato *in vitro* dopo due ore a 37° C. Ma la grande maggioranza diede risultati negativi, ond'io non potetti trarre alcun criterio di speciale importanza.

Infine, dalle fecce di 5 individui sani feci nello stesso tempo 5 isolamenti. Dopo aver assodato con le note reazioni, che il bacillo coltivato fosse un *b. coli*, ne dosai la virulenza nelle cavie e l'acidità delle colture, nelle identiche condizioni di tempo e di terreno nutritivo. Il potere agglutinante fu saggiato col *siero-coli* n. 3. I risultati sono esposti nella seguente tabella:

TABELLA III.

		Virulenza	Acidità	Agglutinamento
I	N. 1	0.50 %	30 %	1:230
	» 2	0.70 »	24 »	nulla
	» 3	0 50 »	26 »	1:230
	» 4	0.70 »	26 »	1:230
	» 5	0.50 »	26 »	1:230
II	N. 1	0.15 %	20 %	1:350
	» 2	0.15 »	20 »	1:350
	» 3	0.15 »	24 »	nulla
	» 4	0.15 »	24 »	nulla
	» 5	0.15 »	20 »	1:350
III	N. 1	0.75 %	26 %	nulla
	» 2	0.50 »	28 »	nulla
	» 3	0.75 »	26 »	1:50
	» 4	0 50 »	28 »	nulla
	» 5	0.75 »	26 »	1:50
IV	N. 1	0.50 %	28 %	nulla
	» 2	0.50 »	26 »	1:100
	» 3	0.60 »	28 »	1:100
	» 4	0.50 »	28 »	1:100
	» 5	0.60 »	26 »	nulla
V	N. 1	0.50 %	40 %	1:300
	» 2	0.60 »	40 »	nulla
	» 3	0.60 »	44 »	nulla
	» 4	0.60 »	48 »	1:300
	» 5	0.50 »	46 »	nulla

Il *b. coli* n. 1 del primo isolamento (v. la tabella a pag. prec.), che si agglutinava nel rapporto di 1 : 230, venne, dopo due mesi di vita sull'agar, iniettato ad un coniglio nella dose di due cmc. di coltura in brodo. Il coniglio diminuì gradatamente di peso e dopo 15 giorni morì. Feci ripetuti solassi e nel sangue non rinvenni mai il potere agglutinante. Provai col *siero-coli* n. 3, il quale due mesi prima erasi mostrato attivo sul bacillo ed ebbi risultati negativi. Il microrganismo, adunque, aveva perduto la proprietà di agglutinarsi.

Il *b. coli* n. 4 del quinto isolamento, che si agglutinava col siero n. 3, nel rapporto di 1 : 300 venne del pari iniettato nel sangue di un coniglio nella dose di un cmc. di coltura in brodo. Dopo sette giorni il siero di sangue agglutinò lo stesso *b. coli* nel rapporto di 1 : 50 e non agì, invece, sul *b. coli* n. 3.

Gli esperimenti riferiti mi offrono l'agio di fare alcune considerazioni sopra varie questioni, che riguardano i bacilli del coligruppo.

La virulenza, che un dato *b. coli* possiede nell'epoca del suo isolamento, o che noi gli facciamo acquistare, passandolo nel corpo di animali, non ha alcuna influenza sul suo potere agglutinante.

È fuori dubbio, però, che molti colibacilli, i quali, come dimostrano le ricerche del Rodet e le mie, nel momento in cui vengono isolati, non si agglutinano, possono divenirlo, se per un tempo più o meno lungo si lasciano invecchiare sull'agar. Tali bacilli, diventati agglutinabili, conservano tale potere, onde iniettati nel sangue degli animali, possono conferirgli la proprietà agglutinante in altc proporzioni verso il bacillo, col quale l'animale viene immunizzato. Dev'essere ben raro il fatto che un colibacillo, nel momento in cui si isola, si presenti fortemente agglutinabile: io non sono riuscito a superare il rapporto di 1 : 350, malgrado avessi fatto agire un siero molto attivo: 1 : 20000.

Viene, adesso, la necessità di rispondere al quesito: quale importanza può avere la siero-reazione impiegata come mezzo batteriodiagnostico?

In tal caso l'agglutinamento dovrebbe servire: in primo luogo ad accertare che un dato bacillo sia un *b. coli*; poi a stabilire i rapporti, che esistono tra due colibacilli.

A questo proposito richiamo l'attenzione sulla tabella I, in cui sono riportati i risultati ottenuti con quei colibacilli, che sull'agar avevano acquistato la proprietà di agglutinarsi in un grado più o meno elevato.

Il *b. coli* n. 1, che, iniettato nei conigli, non conferiva al siero

il potere di agire sul *b. coli* n. 2, veniva, al contrario, agglutinato 1: 100 dal *siero-coli* n. 2; così del pari il *siero-coli* n. 3 non aveva azione sul *b. coli* n. 2, e, invece, il *siero-coli* n. 2 agglutinava il *b. coli* n. 3 nel rapporto di 1: 600.

Ma l'esempio più bello, che forma, direi quasi, la parte essenziale di queste mie ricerche, lo rinvenni nei due *b. coli* n. 1 e 3.

È opportuna cosa il dire, che questi due bacilli li coltivai sempre nello stesso terreno nutritivo, avente la stessa reazione, e li iniettai nel sangue degli animali, forzando lo stato di immunità, sino a raggiungere il limite massimo del potere agglutinante. In tali condizioni il *siero-coli* n. 1 agglutinò il colibacillo n. 3 nel rapporto di 1: 5000 ugualmente bene come il *b. coli* n. 1; ma, al contrario, il *siero-coli* n. 3 non agì, neanche 1: 30, sul *b. coli* n. 1.

Ciò dimostra, come non siano sempre nel vero le affermazioni di taluni autori, tendenti a dimostrare: in primo luogo che il siero di sangue di un animale immunizzato con un dato bacillo agglutini sempre meglio il microrganismo col quale l'animale venne infettato (legge di Pfaundler (1); in scondo luogo, che basti, che il siero di sangue di un animale, immunizzato con un *b. coli*, agglutini un altro colibacillo nello stesso rapporto, perchè i due batterii possono dirsi identici.

Io sento il dovere di mettere in dubbio tale ipotesi, perchè essa allora può avere un valore affermativo, quando si sia dimostrato anche il contrario. Così il *b. coli* n. 4 (tabella III) che veniva agglutinato dal *siero-coli* n. 3, iniettato nel coniglio, non conferiva al siero di sangue dell'animale il potere di influire sul *b. coli* n. 3.

Dalla tabella III derivano pure le seguenti questioni:

Lo stesso *siero-coli* n. 3 agì sopra colibacilli, provenienti da cinque individui differenti per età e per modo di vivere, ed agglutinò solo alcune varietà di quel microrganismo. Ora, i bacilli, provenienti dallo stesso materiale che si agglutinarono in eguale rapporto sono identici?

Ciò potrebbe ritenersi, ma non in modo assoluto dopo quanto ho notato a proposito dei *b. coli* n. 1 e 3, perchè certamente non deve essere trascurato il fatto, che bacilli, provenienti dalle stesse fecce, i quali dimostrarono un identico modo di reagire verso il *siero-coli* n. 3, hanno poi fatto riscontrare differenze quantitative nelle altre reazioni. I batterii, inoltre, che nei vari isolamenti reagirono in modo alquanto differente verso il *siero-coli* n. 3 sono del pari iden-

(1) Centralblatt für Bakteriologie, 1898, vol. XXIII.

tici? Perchè non dimostrarono tutti lo stesso potere agglutinante? E infine, perchè il *siero-coli* n. 2 agì sul *b. coli* n. 1 e 3 nei rispettivi rapporti di 1: 100 e 1: 600 (tabella I); e i *siero-coli* n. 1 e 3 verso il bacillo esistente nella collezione dell'Istituto, isolato alcuni mesi prima dalle fecce di un cane, ecc., si può dedurre che tra quei batterii vi siano dei rapporti di parentela?

Quindi merita grande importanza l'ipotesi di Wolf, confermata da Radziensky, Rothberger, Iatta, ecc., il quale affermò, che sotto il nome di *b. coli* siano compresi microrganismi, che, pur avendo proprietà comuni, sono differenti l'uno dall'altro. Tale autore riferì di aver agglutinato col siero di sangue di un ernioso il *b. coli* isolato dalla marcia dell'ernia suppurata, ma di non essere riuscito ad influenzare i *b. coli* isolati dalle fecce dello stesso individuo. Donde poteva provenire, si domandò il Wolf, il *b. coli* della marcia se non dall' intestino?

Escherich (1) emise l'opinione, che nel passaggio dei *b. coli* nell'intestino, sotto l'influenza del sostrato nutritivo, si formino delle varietà individuali e personali, che nei terreni artificiali conservano per molte generazioni la loro reazione individuale.

Ma v'è di più. Dalle tabelle riportate si rileva, che nell'intestino di un individuo si possono trovare alcuni *b. coli*, che si agglutinano nella proporzione di 1: 350, ed altri, che, pur essendo colibacilli. non reagiscono verso un siero attivo.

Evidentemente risulta da tutto ciò, che la siero-reazione del *b. coli*, praticata a scopo batterio-diagnostico, mentre ci mette a conoscenza di proprietà specifiche dei *b. coli*, che altrimenti non si possono rilevare, non offre tuttavia elementi sicuri per apprezzare le differenze, che passano tra i batterii del *coli-gruppo*. Ed inoltre, se un microrganismo, ritenuto pei suoi caratteri *b. coli*, non viene agglutinato da un *siero-coli* anche molto attivo, può essere un colibacillo, che non abbia acquistato la proprietà di agglutinarsi.

La siero-diagnosi del *b. coli* può arrecare un aiuto giovevole alla diagnosi clinica?

Io ho notato, che, malgrado le conoscenze molto progredite che si posseggono in oggi sul fenomeno dell'agglutinamento, tuttavia non v'è ancora alcunchè di preciso su tale capitolo della siero-diagnosi.

Qualche autore si avvalse di ciò, che Kraus e Löw (2) riferirono, che, cioè, il siero di sangue di un individuo sano possa agglutinare

---

(1) XVII Congress für innere Medicin.
(2) Wiener Klin. Wochens. 1899.

il *b. coli* nel rapporto di 1 : 50 per dichiarare inapplicabile nella pratica la siero-reazione del *b. coli.* Ebbene, questo fatto fu dimostrato anche per il bacillo del tifo, senza che perciò la siero-reazione di Widal abbia perduto il suo valore. Anzi, sono del parere, che queste osservazioni siano valse ad eliminare molti errori dalla tecnica primitiva. Le mie ricerche, eseguite col sangue di conigli sani, mi fanno ritenere molto più raro l'agglutinamento del *b. coli*, che quello del *b.* di Eberth, poichè una sola volta riuscii a rilevare una azione del siero normale, nell'attenuazione di 1 : 30, su due campioni di *b. coli.*

Non v'è mancato chi ha visto tale azione elevarsi sino a 1 : 100; ma io sono di opinione, che questo fatto debba essere accolto con molta riserva, potendo per una lieve intossicazione tanto facile dei prodotti del *b. coli*, anche in individui, apparentemente sani, elevarsi il potere agglutinante del sangue, senza che esso si debba ritenere come una proprietà del siero normale.

Si è, inoltre, asserito, che, per eseguire la siero-reazione del *b. coli*, debba usarsi lo stesso bacillo, il quale ha prodotto l'infezione per ottenere un risultato positivo.

Tale ipotesi io credo che sia molto inesatta, in primo luogo, perchè non è sempre facile trovare il bacillo, che ha prodotto l'infezione; poi, perchè non è necessario, come dimostra il caso che riporto in appresso, senza dire che può costituire, come han fatto alcuni, una causa di grave errore, il prendere uno qualunque dei bacilli delle fecce, perchè, per quello che ho detto più innanzi, vi si possono trovare molto facilmente delle varietà non agglutinabili. Onde io stimo necessario richiamare l'attenzione sopra quei coli-bacilli, che si sono modificati sui terreni nutritivi artificiali, potendosi in tal modo avere una numerosa raccolta di *b. coli*, che si prestano molto bene, e che, anzi, dovrebbero esclusivamente adoperarsi qualora si debba eseguire la siero-reazione del *b. coli.* Inoltre io ritengo che la poca agglutinabilità, che presentano molti *b. coli*, nel momento in cui vengono isolati, può spiegare il fatto, che nelle infezioni naturali il siero di sangue presenti un potere agglutinante relativamente debole.

Per cortesia del prof. De Giaxa praticai in questo Istituto una siero-reazione, mercè la quale si chiedeva di stabilire se l'infezione in atto fosse dovuta al bacillo di Eberth.

Col siero di sangue dell'infermo agglutinai:

B. coli n. 1 — 1 : 150
» n. 2 — 1 : 150

ed inoltre un colibacillo isolato alcune settimane innanzi dalle fecce di un tifoso

B. coli F — 1 : 150,

ma ebbi risultati negativi su di un *b. coli R* isolato quasi contemporaneamente dall'intestino di un individuo morto per grave affezione gastro-intestinale. Non potetti estendere le ricerche per la tenue quantità di siero inviata; ma i ripetuti tentativi fatti sul bacillo di Eberth si mostrarono costantemente inattivi anche nel rapporto di 1 : 10.

Non oso porre in dubbio, però, che la siero-reazione, riuscita infruttuosa per il b. del tifo, possa essere ugualmente negativa per il *b. coli*, quantunque si abbia a trattare di una infezione dovuta al bacillo delle fecce.

Infatti, nei miei primi esperimenti riuscii a far tollerare ai conigli dosi elevate di coltura virulenta, senza che nel siero di sangue fosse mai comparso il potere agglutinante. Inoltre, essendo l'agglutinamento del *b. coli* regolato dalle stesse leggi, che per il b. del tifo, può accadere, che il potere agglutinante del siero si manifesti molto tardi durante l'infezione, o anche dopo, come si è affermato per il bacillo di Eberth.

Questi casi, però, che si possono supporre, è da augurarsi che siano molto rari, come avviene nella infezione dovuta al bacillo del tifo.

Malgrado ciò, ritengo che la siero-reazione del *b. coli* debba costantemente ricercarsi per la sua importanza, e che, qualora riesca positiva nel rapporto di 1 : 50, debbano provarsi diluizioni sempre maggiori 1 : 100, 1 : 150 e più, potendosi in tal modo assicurarsi della infezione, di cui si cerca di stabilire la etiologia.

Nei conigli immunizzati io riscontrai sino a 5 mesi dopo l'ultima iniezione il potere agglutinante nel siero di sangue.

III.

La siero-reazione del *b. coli* può servire a differenziare un colibacillo dal bacillo di Eberth?

Il Bordet (1) ammise, che il *siero-coli* possa influire sul b. del tifo. Fodor e Rigler, invece, non videro mai alcuna azione e con essi molti autori. Rodet affermò, che il b. del tifo nel momento in

(1) Annales de l'Institut Pasteur, 1895.

cui viene isolato è poco o affatto agglutinabile, ma, dopo che i bacilli si modificarono nelle colture, potette col *siero-coli* agglutinare il b. di Eberth nel rapporto di 1: 10000, onde l'autore cercò corroborare l'ipotesi che il b. del tifo sia un *b. coli* modificato. Jatta, agglutinò il b. del tifo col *siero-coli* nel rapporto di 1: 30.

Coi *siero-coli* n. 1 e 3 io ebbi costantemente un agglutinamento 1: 30 del b. del tifo, e solo col *siero-coli* n. 3, 1: 100, nè mi riuscì mai di superare tale diluizione. Quindi in base di tali fatti si può ammettere, che, se il siero di sangue di un animale immunizzato, il quale abbia la proprietà di agglutinare fortemente i coli-bacilli, non agisca nel rapporto di 1: 100 su di un microrganismo, il quale per altri caratteri può ritenersi un bacillo di Eberth, con molta probabilità si tratta di bacillo del tifo. Credo necessario riferire in questo punto, che i *b. coli* n. 1, 2, 3, anche adesso, dopo un anno e mezzo dal loro isolamento, conservano tutti i caratteri, che li differenziano dal b. del tifo.

IV.

Volli, inoltre, sperimentare se diversi *b. coli*, i quali si erano mostrati perfettamente dissimili tralo ro, iniettati nel sangue contemporaneamente avessero prodotto una sostanza agglutinante specifica.

Alle osservazioni di Volff e di Vincent (1) seguirono quelle di Rodet, il quale infettò una cavalla con un *b. coli R.* poi con altri campioni di coli-bacilli successivamente. Il siero di sangue agglutinò meglio che il siero singolo; ma le varietà, che da questo non venivano agglutinate, non risentirono ancora alcuna azione dal siero misto.

Invece, il Rothberger dalle sue numerose ricerche si convinse, che il siero misto fosse di gran lunga più attivo del siero singolo, quantunque avesse iniettato negli animali quantità identiche nello stesso tempo.

Incominciando da una piccola dose io mi limitai in tutto a fare tre iniezioni di quantità uguali di *b. coli* n. 1, 2 e del b. del tifo. Ottenni, così un siero misto che agglutinava:

B. coli n. 1 — 1: 800
» n. 2 — 1: 1000
b. del tifo — 1: 1000

(1) Annales de l'Institut Pasteur, vol. VII.

Tali risultati non differenziarono in nulla da quelli ottenuti, iniettando uguale quantità di coltura di un solo bacillo. Anche il Castellani (1), in una recentissima pubblicazione, giunge alla conclusione, che nelle infezioni miste sperimentali, provocate contemporaneamente, il siero di sangue acquista un potere agglutinante per tutti i microrganismi coi quali l'animale venne infettato, risultati, cioè, che sono identici a quelli, che si hanno, quando si immunizza un animale con un solo bacillo.

Tali fatti si possono riscontrare anche nelle infezioni miste dell'uomo.

V.

La presenza del glucosio nel terreno nutritivo può avere influenza sul fenomeno dell'agglutinamento del *b. coli?*

Finora, per quello ch'io sappia, solo il Rodet, in una nota al lavoro citato, ha messo innanzi il dubbio di una certa azione.

Io coltivai il *b. coli* n. 1 in brodo contenente glucosio dall'1 al 6 per cento. Feci sviluppare il bacillo nello stesso tempo e con passaggi successivi.

Ciò, che a prima vista interessava era l'aspetto delle colture. Il brodo non si mostrava ugualmente torbido; ma in esso vi si notavano sospesi dei piccoli cumuli, che con lo sbattimento si disfacevano ed allora il brodo diventava uniformemente torbido. All'esame a goccia pendente si notavano alcuni piccoli mucchi in mezzo a un gran numero di bacilli isolati e mobili.

Ad evitare errori mi avvalsi sempre della reazione *in vitro,* adoperando come controllo una coltura in brodo semplice.

Gli esperimenti eseguiti mi fecero costantemente osservare un notevole ritardo del fenomeno dell'agglutinazione. Le provettine, nelle quali distribuii la coltura, vennero tenute al termostato a 37° C.

---

(1) Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten. 1902.

TABELLA IV.

Coltura di B. coli N. 3 — Siero attivo 1 : 20000.

Brodo semplice dopo 1 ora a 37° C.			Brodo glucosato		
			dopo 1 ora	dopo 2 ore	dopo 3 ore
Agglutinamento	1 : 4000	+	1 : 4000 +	1 : 4000 +	1 : 4000 +
Id.	1 : 6000	+	1 : 6000 —	1 : 6000 +	1 : 6000 +
Id.	1 : 8000	+	1 : 8000 —	1 : 8000 —	1 : 8000 +
Id.	1 : 10000	+	1 : 10000 —	1 : 10000 —	1 : 10000 +
Id.	1 : 20000	+	1 : 12000 —	1 : 12000 —	1 : 12000 +

Da questa tabella si rileva, che, mentre nel brodo semplice l'agglutinamento si rendeva visibile *in vitro* dopo 1 ora (fiocchi grossi, precipitato al fondo della provetta, liquido culturale in tutto o in parte chiarificato), nel brodo con glucosio compariva appena 1 : 4000 e dopo 2-3 ore negli altri tubulini. La quantità del glucosio superiore all'1 $^{0}/_{0}$ ha influito appena o quasi nulla.

Evidentemente l'eccesso di acidità nella coltura, dovuta alla fermentazione del glucosio, fa ritardare notevolmente il fenomeno dell'agglutinazione.

Conclusioni.

Dagli esperimenti eseguiti posso dedurre le seguenti conclusioni:

1° Nelle fecce di individui sani si possono trovare *b. coli*, che si agglutinano ed altri no.

2° I bacilli del gruppo-coli, che non possiedono la proprietà di agglutinarsi, iniettati anche in alte dosi nel sangue dei conigli non producono sostanza agglutinante. Al contrario possono acquistare tale potere, se per diversi mesi vengono coltivati sull'agar.

3° Il grado di virulenza non influisce affatto sulla agglutinabilità del bacillo.

4° Un *b. coli*, che nell'epoca in cui venne isolato dalle fecce si mostrava agglutinabile, trasportato sull'agar può, forse temporaneamente, perdere tale proprietà.

5° Il siero di sangue di un animale immunizzato con un coli-bacillo può agglutinare un altro *b. coli* nello stesso rapporto, nel quale agglutina il rispettivo bacillo, senza che per questo i due batterii possano dirsi identici, perchè può non verificarsi il contrario.

6° La siero-diagnosi praticata a scopo batterio-diagnostica ci mette in grado di conoscere proprietà specifiche di alcuni coli-bacilli, le quali in altro modo non si possono rilevare, ma non ci offre dati certi per differenziare i bacilli del coli-gruppo tra loro.

7° La siero-diagnosi a scopo clinico può servire a differenziare una infezione da *b. coli*, avendo valore se si verifica nel rapporto di 1 : 50 in sopra.

8° Nelle infezioni miste sperimentali il siero di sangue acquista proprietà specifiche, agglutinando i diversi bacilli, coi quali l'animale venne infettato.

9° Nel sangue dei conigli immunizzati a scopo sperimentale si può riscontrare il potere agglutinante 5 mesi e più dopo l'ultima iniezione.

10° Nella preparazione delle colture di *b. coli* da impiegare nella siero-diagnosi non si useranno terreni zuccherati, perchè in essi viene notevolmente ritardato il fenomeno dell'agglutinazione.

Napoli, 8 giugno 1902.

Laboratorio Medico-micrografico dell'Ufficio Municipale d'Igiene di Bologna

Di una zona malarica nel Comune di Bologna [1]

per il Prof. **FLORIANO BRAZZOLA.**

(con la Tav. II).

Nel comune di Bologna, in questi due ultimi anni, si formò una zona malarica il cui studio può avere una certa importanza, sovratuttto nella questione del paludismo senza malaria. Quest'ultimo argomento, sul quale hanno recentemente richiamato l'attenzione Celli e Gasperini, Grassi, Nuttall, Sergent, Pfeiffer, ecc., ha certo una grande importanza e potrà gettare un po' di luce su alcune questioni tuttora sospese nell'epidemiologia della malaria. È appunto per questo motivo che credo conveniente far conoscere questa nuova zona di malaria e le condizioni nelle quali si è andata formando.

Devo innanzi tutto premettere due fatti:

Diversi anni or sono in Bologna, e specialmente nella parte bassa del comune, si ebbero alcuni casi di malaria. Si trattò però sempre di pochissimi casi, qualcuno importato, qualche altro autoctono, ma qua e là sparsi e che rimasero sempre isolati. Invece in questi due ultimi anni andò formandosi una vera zona malarica, la quale rapidamente assunse grandi proporzioni.

Oltre a ciò nei dintorni di Bologna, specie nella parte bassa, hanno sempre esistito anofeli: posso asserire questo anche in base a dichiarazione del professore Emery. La nostra zona, negli anni passati era sicuramente invasa da anofeli.

Si tratta quindi di una regione di paludismo senza malaria (stato anofelico e palustre senza malaria) diventata attualmente una vera zona di malaria: lo studio perciò potrà avere qualche interesse.

Questa zona malarica si formò proprio alle porte della città in

(1) Comunicazione fatta alla Società medica di Bologna il 22 novembre 1901.

frazione Sant'Egidio, e più propriamente a cavalcioni della strada comunale di San Donato, lungo un tratto delle vecchie fortificazioni. Da questo centro andò e va estendendosi, sempre lungo la linea delle fortificazioni verso le frazioni limitrofe degli Alemanni ed Arcoveggio, minacciando anche la città. La zona avrà un'estensione di circa 3 kmq.

Nella pianta topografica (V. Tav. II) che accompagna questa nota, la zona è segnata in rosso e distinta in due sezioni: la parte centrale, maggiormente colorata, costituisce il centro d'infezione, in essa quasi tutti gli abitanti sono ammalati; la parte periferica è colpita in grado minore e rappresenta la zona di propagazione. Le opere di fortificazione sono segnate in bleu.

Le mie ricerche furono rivolte sovratutto ai seguenti punti: statistica, accertamento della diagnosi, etiologia e patogenesi, profilassi. Io sarò, per quanto è possibile, breve, non farò citazioni bibliografiche, perchè sono nel miglior modo riassunte in diversi lavori, non mi fermerò neppure su molte questioni, sia d'indole generale che speciali, perchè non farei che ripetere cose già note; riferirò solo quello che è strettamente legato all'argomento che ci interessa.

Prima però trovo conveniente dire due parole sulla ubicazione e sulle condizioni della località in cui la zona malarica si svolse.

La località indicata si trova nella parte più bassa della città ad una quota di m. 46 a m. 47; in essa un tempo vi scorreva la Savena. Tutta la località è attraversata dalle vecchie opere di fortificazione, sotto forma di terrapieni, di lunette, di forti, e queste opere hanno profondamente modificate le condizioni idriche.

Le acque freatiche sono ad un livello molto superficiale, mancano canali di scolo razionalmente costruiti, e, in seguito specialmente alle opere di fortificazione, si trovano qua e là molte raccolte di acqua, in parte di sottosuolo, in parte piovane. Queste acque in alcuni punti, specie attorno ai vecchi forti e alle lunette, si trovano allo stato di raccolte piuttosto grandi sono acque chiare, che si muovono con lentezza, ma costantemente, e sono ricche di vegetazione palustre: sono vere acque palustri. In altri punti invece le acque sono chiare e senza vegetazione, presentando i caratteri delle così dette acque foveali.

Vi sono anche alcuni bacini artificiali che servono per la macerazione della canape. In alcune delle grandi raccolte si coltiva il pesce rosso a scopo industriale.

La località è, si può dire, aperta campagna, con gruppi di case qua e là sparse. Il terreno è coltivato in gran parte a prato. Le abitazioni sono piuttosto scarse: si tratta di gruppi di case che fiancheggiano specialmente le strade e di qualche casa sparsa. Le condizioni igieniche lasciano molto a de-

siderare: la popolazione in genere è agglomerata e con una quantità enorme di bambini.

Gli abitanti in parte sono contadini e braccianti, in parte operai che lavorano in città e che alla sera fanno ritorno in famiglia. Le condizioni igieniche degli abitanti in generale sono tutt'altro che buone: si tratta di individui sopraffaticati e spesso anche malamente ed insufficientemente nutriti.

Le altre condizioni localistiche hanno per noi poca importanza e su di esse non mi fermo.

Statistica. — La statistica venne fatta in sito, ripetutamente controllata e sulla maggior parte degli ammalati venne istituito l'esame del sangue. Nella parte centrale della zona fu tenuto calcolo della popolazione ed i casi di malaria osservati furono messi in rapporto coll'intensità della popolazione; nella zona di propagazione invece furono raccolti solo i casi di malattia. Si cercò anche di tener distinti i casi primitivi da quelli recidivi, e per questa distinzione si tenne calcolo specialmente dei fatti clinici, dall'epoca in cui cominciarono a recidivare. Quasi tutti gli ammalati della precedente stagione in principio di primavera, quando non sono possibili infezioni nuove, erano già di nuovo ammalati e continuarono ad avere accessi tipici: questi furono considerati come recidivi.

Credo superfluo riportare quadri statistici e riferisco solo il numero dei casi osservati, tenendoli distinti per anno e per le due sezioni della zona.

Il numero complessivo dei casi osservati fu di *463*, di cui 405 nella parte centrale della zona, su di una popolazione di 591 abitanti (raggiungendo la percentuale del 68.5 per cento) e 58 nella parte periferica.

I casi sono così distribuiti:

Nella zona centrale:
Nel 1899 casi n. 4;
Nel 1900 casi 128 nuovi e 3 recidivi;
Nel 1901 casi n. 273 nuovi e 114 recidivi.

Nella parte periferica:
Nel 1899 casi n. 0.
Nel 1900 casi n. 9;
Nel 1901 casi n. 49 nuovi e 4 recidive (1).

(Il numero elevato dei recidivi deve certamente essere attribuiti

(1) Queste cifre riassuntive non corrispondono perfettamente a quelle riferite nella comunicazione alla Società medica, e ciò perchè non si era tenuto calcolo di una casa colonica.

al fatto che negli anni 1899 e 1900 su nessuno degli ammalati venne istituita una cura attiva e tanto meno la protezione).

Oltre questi casi osservati nella zona malarica indicata, se ne ebbero qua a là sparsi nei territori limitrofi ed alcuni anche nella parte bassa della città. Sono per lo meno 45 o 50.

Accertamento della diagnosi. — La diagnosi di malaria in genere è facile ed è superfluo fermarsi a lungo su questo argomento.

Già dal lato clinico nel nostro caso la diagnosi era più che sicura. Il modo di insorgere della febbre, il decorso e la durata degli accessi, la defervescenza tipica, il modo di succedersi degli accessi, lo stato della milza, le condizioni generali, ecc., non potevano lasciare alcun dubbio. La forma prevalente era la terzana, spesso però, specie nei bambini, assumeva il tipo quotidiano.

Oggi però la diagnosi clinica deve essere controllata, precisata. dall'esame del sangue, anzi una terapia veramente utile ed efficace deve essere basata sulla diagnosi microscopica. Coll'esame del sangue infatti noi oggi possiamo fare non solo la diagnosi generica, ma possiamo anche diagnosticare con sicurezza assoluta il tipo, possiamo anche stabilire il momento opportuno d'intervenire nella terapia.

L'esame del sangue venne fatto sia a fresco, sia previa colorazione, usando i processi e le norme oggi raccomandati. I migliori risultati, rispetto ai metodi di colorazione, li ebbi col bleu di metile boracico secondo Koch e Gosio, col Romanowsky-Ziemann, col metodo di Reuter, colla miscela di bleu di metile, Roth aus Metylen-blau ed eosina. Per le modalità della tecnica mando ai rispettivi lavori.

Nella diagnosi microscopica dei nostri ammalati furono, naturalmente, presi in considerazione tutti i recenti lavori pubblicati sul parassita della malaria, sulla sua morfologia e biologia, e si cercò di fare non solo una diagnosi generica, ma anche una diagnosi differenziale di tipo.

Nella nostra zona l'esame del sangue dimostrò nella maggior parte dei casi, almeno nel periodo di tempo delle mie indagini, la presenza della Laverania malariae; in molti ammalati si trovarono i gameti semilunari circolanti: si trattò quindi prevalentemente di terzana estivo-autunnale.

In un numero molto più limitato si riscontrò il plasmodium vivax della terzana primaverile; solo qualche forma mista. Non potei tener calcolo del numero reciproco perchè incominciai le mie osservazioni a stagione troppo inoltrata: mi riserbo, al caso, di fare questa parte del lavoro nel prossimo anno.

Le forme da noi osservate però, sebbene estivo-autunnali, furono tutte relativamente benigne. Si ripete qui a Bologna quello che già è stato notato in altre località: i parassiti estivo-autunnali possono avere vario grado di virulenza più esaltata nell'Italia inferiore. (Celli, Grassi, Felletti). Mentre nella maggior parte dell'Italia media e meridionale le febbri malariche, sostenute dalla Laverania malariae, sono spesso gravi e degenerano in perniciose, nei dintorni di Bologna sono piuttosto benigne, cedono facilmente al chinino, sebbene recidivino con altrettanta facilità, appena si sospende il chinino. Devo però notare che in diversi individui il quadro morboso alle volte è grave: vomiti ostinati, notevole depressione nervosa, anemia, forte dimagramento da ridurre gli ammalati quasi ad uno stato cachettico. Fortunatamente ora nella popolazione sono diminuiti i pregiudizi contro l'uso del chinino e lo stato generale degli ammalati è molto migliorato: in principio invece si riceveva l'impressione di una località gravemente malarica.

In alcuni casi, specie nelle forme in cui non si riusciva a trovare il parassita e nelle forme così dette latenti, ricorsi ad un altro criterio diagnostico, su cui ultimamente è stata richiamata l'attenzione, voglio dire alla siero-diagnosi. Certo questo argomento è ancora alquanto controverso; la tecnica deve essere condotta con molto rigore, ma il processo diagnostico può essere di un certo aiuto: io ebbi buoni risultati in diversi casi.

Etiologia e patogenesi. — Il problema dell'etiologia della malaria, dopo le prime ricerche di Laveran e più specialmente dopo i lavori della scuola italiana (Marchiafava, Celli, Golgi, Grassi, Bignani, Bastianelli) e dopo i lavori di Manson, Koch, Nuttall, ecc., si può dire, in gran parte almeno, risolta, e noi, basandoci appunto su questi lavori, abbiamo cercato di indagare i fattori pei quali la nostra zona malarica andò sviluppandosi.

Qui conviene richiamare di nuovo l'attenzione su alcuni fatti in parte già accennati fin da principio.

I dintorni di Bologna, specialmente nella parte bassa della città, rappresentano regioni di paludismo senza malaria: una di queste regioni ultimamente andò trasformandosi in una vera zona di malaria e possiamo dire grave.

Nella localita ora infetta, diversi anni or sono (12-15 anni fa), vi furono alcuni casi autoctoni di malaria, specie attorno ai forti; da quell'epoca però non si ebbero altri casi, e per lo meno da sette ad otto anni questa regione era sicuramente immune da malaria. I primi casi si osservarono nel 1899 e furono quattro. Il primo si notò

in principio di luglio (sicuramente dopo il taglio del frumento); gli altri tre in luglio e agosto. Ammalarono tutti di forma terzana piuttosto grave e con accessi tipici: in tre la forma conservò il tipo terzanario, in uno (il più giovane) assunse il tipo quotidiano. Questi individui non furono mai in luoghi malarici, si può dire che non si mossero mai da Bologna, ammalarono quasi contemporaneamente, e da tutte le indagini fatte si deve dedurre che essi presero la malaria in sito.

Ora questi quattro ammalati costituiscono il punto di partenza dell'attuale endemia malarica. Nel 1899 ebbero una quantità di accessi e non furono curati o lo furono molto insufficientemente: nel 1900 recidivarono prestissimo in principio di primavera, almeno tre (uno ebbe solo qualche accesso abortito che cedette subito al chinino), non si vollero curare, prendevano solo un po' di chinino durante gli accessi, quindi continuarono a recidivare e sono tuttora ammalati. Nel 1900 incominciano a svilupparsi molti casi nuovi, ed alla fine della stagione se ne hanno 128 nella parte centrale della zona e 9 nella periferica. Anche questi casi o furono curati insufficientemente o non lo furono del tutto, per cui nel 1901 la maggior parte recidivarono prestissimo e continuarono ad avere accessi. Nel 1901 la forma si estende ancora maggiormente e si hanno 273 casi nuovi nella parte centrale e 49 nella periferica, raggiungendo la cifra totale di 463 casi.

Il richiamo di questi fatti era necessario per poter spiegare l'insorgere dell'epidemia e per poterne capire la rapida diffusione.

Stabilita in modo sicuro la diagnosi, si andò subito, in base alle attuali cognizioni sull'etiologia della malaria, alla ricerca dell'anofele. I caratteri zoologici e le abitudini delle zanzare in genere, dell'*anopheles* in specie, sono troppo noti perchè si potessero incontrare difficoltà in questa parte delle indagini.

Nella località indicata si trovarono subito un numero grandissimo di *anopheles*. Ad una ricerca superficiale e durante il giorno nelle abitazioni dell'uomo, veramente gli *anopheles* si riscontrano in quantità piuttosto piccola; nelle stalle invece e nei locali in vicinanza delle stalle, sovratutto in alcuni posti, se ne trovano quantità veramente enormi: si vede che di giorno si rifugiano, si riuniscono, in questi locali per uscirne sul far della sera e nella notte. Si tratta, si può dire, costantemente dall'*anopheles maculipennis* o *claviger*, almeno nelle abitazioni; solo raramente si trova qualche esemplare di *pseudopictus* o *pictus* e *bifurcatus*. Quest'ultimo però all'aperto si deve trovare in grande quantità, perchè dalle larve raccolte lo si vede spesso nascere in grandi proporzioni.

L'*anopheles*, il *claviger* in ispecie, è, come ripeto, grandemente diffuso nella nostra zona malarica, almeno nell'epoca delle mie indagini (luglio-agosto-settembre 1901). Non solo poi lo troviamo nella zona malarica, ma anche sparso, sebbene in numero minore, nei dintorni della città; ne trovai pure diversi esemplari in città, sempre però nella parte bassa.

Insieme all'insetto alato si trovarono, naturalmente, le uova, le larve e le pupe.

Disgraziatamente, come ho già accennato, nella nostra zona, sovratutto in causa delle vecchie opere di fortificazione e per la mancanza di fognatura e di drenaggio del terreno, si trovano molte raccolte d'acqua, le quali offrono tutte le condizioni richieste per lo sviluppo degli *anopheles*. In alcuni punti queste acque sono chiare, si muovono con lentezza, ma continuamente e sono ricche di vegetazioni palustri, costituendo un vero habitat palustre. In altri punti invece presentano i caratteri delle acque foveali.

Ora in tutte queste acque si trovarono grandissime quantità di larve, almeno nel periodo di tempo delle mie ricerche. Nella nostra zona le larve si trovano indifferentemente sia nelle acque con caratteri palustri, sia in quelle foveali; certo però che le larve di *claviger* prevalgono nelle raccolte d'acqua piuttosto grandi e coi caratteri delle acque palustri, mentre quelle del *bifurcatus* a preferenza nei piccoli bacini d'acqua, a corso lento e piuttosto fresca.

Da molte di queste larve furono fatti sviluppare gli insetti perfetti in laboratorio. L' allevamento dell'insetto alato è piuttosto facile.

Stabilita la presenza degli anofeli si cercò di determinare se erano infetti o no ed in quali proporzioni. Questa ricerca presenta qualche difficoltà, almeno in principio: successivamente però coll'esercizio si riesce abbastanza agevolmente a differenziare gli anofeli infetti dai non infetti ed anche a seguire le diverse fasi di sviluppo dell'anfionte nel corpo dell'anofele. Per la tecnica di queste ricerche mando specialmente ai lavori di Grassi, Bignami e Bastianelli.

Vennero esaminati moltissimi anofeli, specialmente nei mesi di agosto e settembre, e furono trovati infetti in una proporzione sempre elevata. In media un terzo e più degli anofeli esaminati contenevano amfionti liberi nell' intestino od incistidati nelle pareti elastico-muscolari dell'intestino stesso, o sporozoiti liberi od accumulati nelle glandole salivari.

Potei anche seguire diverse fasi evolutive della generazione

sessuata nel corpo dell'anofele, ed in genere confermai le ultime osservazioni di Bignami e Bastianelli, osservazioni le quali hanno certo un grandissimo valore.

Il numero relativamente molto elevato degli anofeli trovati infetti deve dipendere da diversi fattori. Quasi tutti gli abitanti della zona sono ammalati e la maggior parte con gameti liberi nel sangue: gli ammalati sono riuniti in gruppi di case, dove sono pure accumulati gli anofeli, quindi grandissima la facilità di infettarsi e di infettare.

Credo che la grande quantità di anofeli e la percentuale alta degli infetti rappresentino il fattore principale per cui la malattia rapidamente si diffuse e assunse una certa gravità.

La presenza della malaria nella nostra zona e la sua rapida diffusione, sono, per così dire, una conseguenza necessaria della grandissima quantità degli anofeli che in essa si trovano e dell'alta percentuale degli infetti. Rimangono però sempre da risolvere le questioni principali:

a) Come e perchè gli anofeli si svilupparono in così grandi proporzioni?

b) Come si infettarono questi anofeli? Come ammalarono i quattro individui del 1899?

c) Perchè la forma morbosa assunse così rapidamente l'attuale estensione?

La prima questione potrebbe essere risolta abbastanza facilmente. Come ripetutamente dissi, nella nostra zona, anche nei tempi passati, esistevano anofeli, certo però in proporzioni molto minori di quello che non lo sia attualmente. Tutta la popolazione della località si lamenta dell'enorme aumento delle zanzare da due o tre anni: insieme ai *culex*, indubbiamente, devono essere aumentati anche gli anofeli. Alcuni individui della località conoscono gli anofeli; essi dicono che queste zanzarone dalle gambe lunghe e sottili, hanno sempre esistito, specie nelle stalle; ora però sono molto aumentate in numero.

È difficile stabilire perchè le zanrare in genere, gli anofeli in ispecie, in questi ultimi anni si siano tanto sviluppati. È certo però che le condizioni idriche della località sono andate profondamente modificandosi. Come dissi, le raccolte d'acqua sono in gran parte prodotte dalle vecchie opere di fortificazione. Ora siccome Bologna cessava di essere piazza fortificata, così ultimamente i terrapieni, le lunette, i forti furono abbandonati, gli scoli delle acque ed il drenaggio del terreno completamente trascurati: conseguentemente le

acque si raccolsero in maggior quantità ed andarono assumendo i caratteri di acque palustri. Da qui l'enorme sviluppo delle zanzare. Forse avranno contribuito altre cause (condizioni atmosferiche, ecc.), ma il fattore principale deve essere stato quello da me ora ricordato.

La questione degli anofeli quindi può essere abbastanza facilmente risolta. Si tratta di una zona di paludismo senza malaria, nella quale, per mutate condizioni ambienti, specialmente idriche, si ebbe un notevole aumento nel numero degli anofeli.

Molto più difficili da risolvere sono le altre questioni. Come si infettarono questi anofeli? Come ammalarono i quattro individui del 1899?

Qui si possono fare diverse supposizioni. O qualcuno dei primi ammalati si infettò in luoghi malarici, importando la malattia nella zona, o nella località capitò qualche ammalato con gameti nel sangue, o finalmente sono stati importati anofeli infetti che, trovate condizioni ambienti favorevoli, si fermarono nella località unendosi ai preesistenti.

La prima possibilità pare possa escludersi. Per quante indagini abbia fatto, gli individui che per i primi ammalarono nel 1899 non furono mai in luoghi malarici, non lasciarono mai la località, ammalarono quasi contemporaneamente e con tutta probabilità, per non dire certezza, devono aver preso la malaria in sito.

La seconda supposizione, sebbene non abbia potuto raccogliere dati sicurissimi, è più probabile.

È certo che qualche famiglia di contadini proveniente da luoghi malarici venne nella località, come è certo che diverse famiglie hanno parenti che vivono in luoghi malarici e che qualcuno di questi parenti capita di quando in quando in sito. Bisogna poi tener calcolo della possibile fermata, anche momentanea, di persone con gameti nel sangue. Vi è per esempio un'osteria, proprio nel centro della zona, nella quale frequentemente fanno sosta birocciai e persone in genere provenienti sicuramente da luoghi malarici (da Malalbergo e dintorni). Questa seconda supposizione perciò è molto probabile.

È pure possibile la terza supposizione: il trasporto cioè di anofeli infetti.

La zona, come è detto, è proprio a cavalcioni della strada comunale di S. Donato, la quale mette in luoghi di malaria grave. Ore da questa strada transitano spesso carri di fieno e di strame vallivo provenienti da queste località.

È a tutti noto che vere coorti di zanzare seguono spesso questi carri; molti di questi carri poi si fermano nelle località. Bisogna quindi pensare anche al possibile trasporto di anofeli infetti, i quali, trovate condizioni ambienti favorevoli, si siano fermati nella zona, unendosi ai preesistenti.

È difficile pronunziarsi su queste possibilità: io però ritengo che le maggiori probabilità stiano per l'arrivo nella zona di qualche ammalato con gameti nel sangue e che abbia infettato gli anofeli preesistenti. Quello che è certo si è che i quattro casi del 1899 costituiscono il punto di partenza dell'attuale endemia, e che questa località la quale dapprima costituiva una regione di paludismo senza malaria, si trasformò in una vera zona malarica e piuttosto grave.

Sulle altre questioni che si connettono coll'esistenza di regioni di paludismo senza malaria ed alla possibile trasformazione o ritorno in zona malarica io non mi posso fermare. È noto che si è parlato di stato immune degli anofeli, che si è parlato di ammalati sterili, che si è invocato l'influenza del chinino, ecc. Nel nostro caso l'esistenza di anofeli immuni è molto problematica, in modo assoluto poi non possiamo parlare di influenza del chinino, perchè nessuno prima del 1899-1900 ne fece mai uso. Io ritengo che abbiano influito in modo speciale le condizioni localistiche e sovratutto le mutate condizioni idriche. Se poi le mutate condizioni ambienti abbiano anche preparato l'anofele all'infezione non può essere stabilito in modo sicuro, è pero molto probabile.

Le ragioni poi per le quali la forma morbosa assunse grandi proporzioni sono diverse. Innanzi tutto bisogna ricordare le condizioni localistiche: attualmente si tratta di una zona si può dire palustre nello stretto senso della parola. Bisogna poi aggiungere un altra lunga serie di fattori: la grande quantità di anofeli, di cui moltissimi infetti, la popolazione riunita in gruppi di case in condizioni igieniche non troppo buone, la grande quantità di bambini, le abitudini delle popolazioni, i pregiudizi contro l'uso del chinino e finalmente la poca resistenza organica della popolazione.

Profilassi. — Sulla profilassi io dirò due sole parole, perchè mi riservo di riferirne alla fine della prossima stagione malarica, quando nella nostra zona sarà stata applicata una profilassi veramente razionale.

I metodi profilattici della malaria in genere, non ostante alcune controversie, sono ormai stabiliti. I concetti generali sono quelli applicati per tutte le malattie infettive: distruggere cioè, rendere innocuo il germe della malattia, attaccare il veicolo od i veicoli di

infezione, combattere le cause predisponenti ed adiuvanti. Purtroppo per la malaria l'applicazione di questi concetti è piuttosto difficile, specialmente in causa delle complicate circostanze etiologiche: ad ogni modo però oggi abbiamo studî ed esperimenti di grandissimo interesse ed utilità pratica.

In base a questi ultimi lavori e ricerche, sui quali è superfluo che io insista, perchè troppo noti, noi abbiamo cercato di limitare, per quanto fu possibile, l'estendersi della forma morbosa. Disgraziatamente però la nostra attenzione fu richiamata molto tardi. A Bologna si parlava di malaria, ma troppo vagamente, la diagnosi non era accertata, la denuncia non obbligatoria e quindi si è intervenuti quando ormai tutti erano ammalati, quando si poteva far poco o nulla, anche per l'epoca troppo avanzata dell'anno.

Per quanto fu possibile però si è cercato d'intervenire, di limitare la diffusione della malattia, attaccando il germe nell'uomo e nella zanzara.

Sarebbe certo stato molto utile l'isolamento degli ammalati colla protezione meccanica, ma nel nostro caso ciò, al momento almeno, non fu possibile, per cui si cercò di bonificare l'uomo ammalato, di distruggere il germe colla cura degli ammalati, applicandola col maggior scrupolo e coi migliori criteri. Pur troppo però si tratta di una popolazione ancora piena di pregiudizi, che rifugge da ogni cura, specie a base di chinino, ed in principio si dovette lottar molto anche per curare le forme in atto.

Più tardi incominciò a subentrare un po' di fiducia e la bonifica dell'uomo su base di disinfezione del sangue, con preparati di chinino (che fu dal Municipio distribuito a tutti), potè essere applicata su scala abbastanza vasta.

Nello stesso tempo si provvide alla disinfezione della sorgente e del veicolo d'infezione, alla distruzione cioè dell'anofele.

Per il momento non era da parlare di bonifica del suolo, quindi si provvide alla distruzione delle larve e degli insetti alati: per la distruzione delle larve si usò a preferenza il larvicida, che diede buonissimi risultati; contro gli insetti alati venne adoperata la zanzolina. Anche per altra indicazione, per impedire cioè la penetrazione dei germi nell'organismo umano, sarebbe stata utile la protezione meccanica, ma, come ripeto, finora almeno non potè essere applicata.

La vera profilassi sarà intrapresa nella prossima stagione malarica, sarà informata ai noti concetti generali e basata su tre punti principali: bonifica dell'uomo nella stagione premalarica, distruzione

delle larve e delle zanzare alate, eventuale protezione meccanica, bonifica della località.

Nel nostro caso io ritengo che la bonifica del suolo rappresenti la vera profilassi razionale, dirò quasi causale. Io sono convinto che la nostra zona è diventata malarica per le mutate condizioni locali: è una zona di paludismo senza malaria, diventata malarica: la profilassi quindi dovrà rivolgersi specialmente alla bonifica del suolo.

I risultati della prossima campagna antimalarica saranno riferiti in fine di stagione.

Conclusioni.

Le conclusioni alle quali io arrivo da queste poche osservazioni sono le seguenti:

Alcuni dintorni di Bologna, specialmente della parte bassa della città ed in corrispondenza alle vecchie opere di fortificazione, rappresentano delle località di paludismo senza malaria.

Una di queste località, appena fuori di Porta Zamboni, in frazione S. Egidio, in questi due ultimi anni andò trasformandosi in zona malarica, piuttosto grave.

Le condizioni le quali devono aver influito in questa trasformazione sono in gran parte localistiche e costituite sovratutto dall'insufficiente drenaggio del suolo. Bisogna però tener calcolo anche del numero degli anofeli e forse anche di speciali stati degli anofeli, stati strettamente connessi alle condizioni ambienti in cui l'anofele è obbligato a vivere.

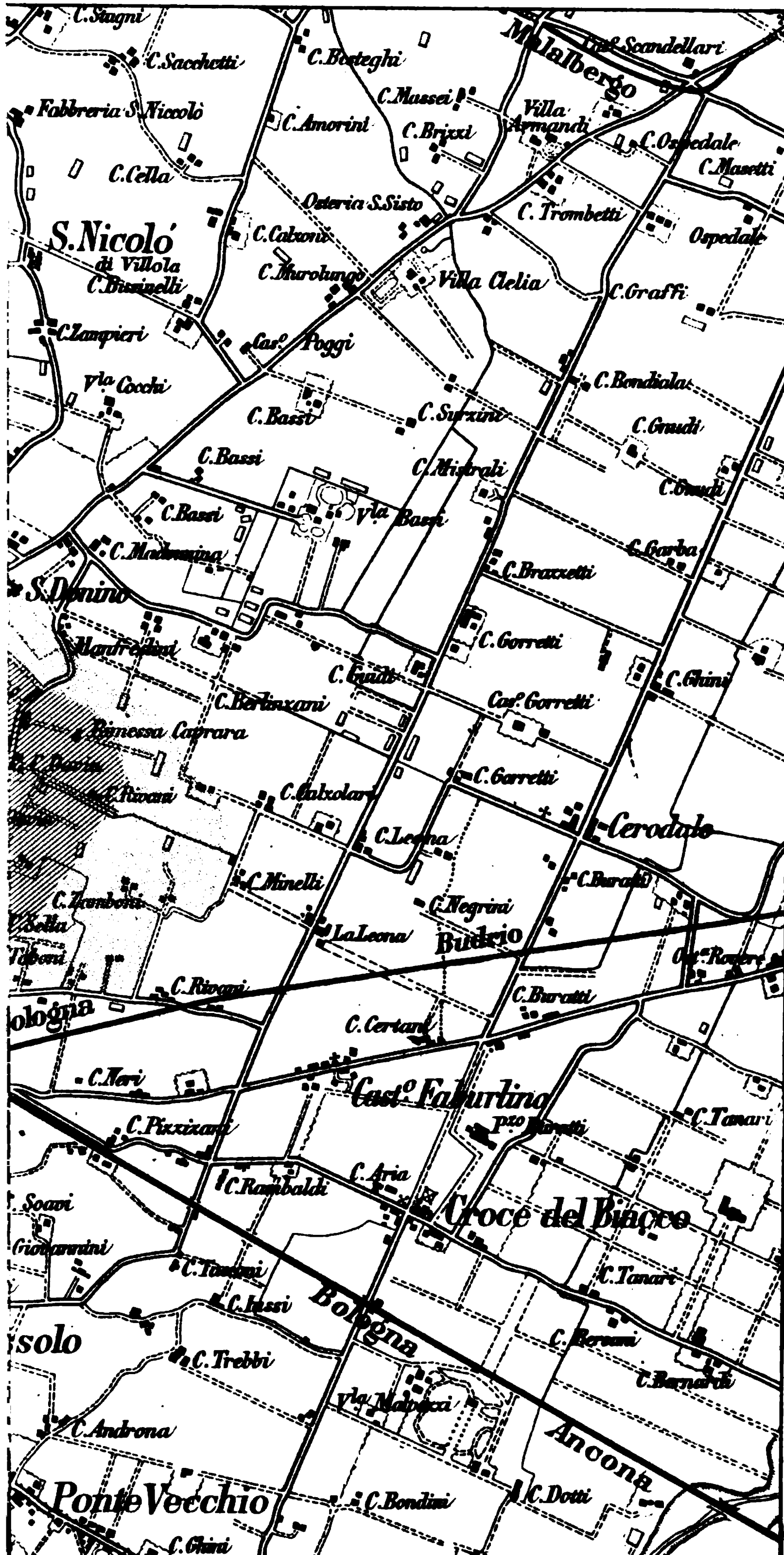
La presenza degli anofeli in una località rappresenta sempre un gravissimo pericolo, perchè da un momento all'altro la località può diventare malarica.

La profilassi della malaria in località di paludismo senza malaria ritornate o trasformate in zone malariche, deve prendere in considerazione sovratutto le circostanze localistiche, e deve essere prevalentemente a base di bonifica del suolo.

Spiegazione della Tavola II.

Di una zona malarica nel Comune di Bologna.




C. Stagni
C. Sacchetti
C. Besteghi
Malalbergo
C. Massei
Villa Armandi
Fabbreria S. Niccolò
C. Amorini
C. Brizzi
C. Ospedale
C. Masetti
C. Cella
Osteria S. Sisto
C. Trombetti
Ospedale
S. Nicolò
di Villola
C. Calzoni
C. Murolungo
Villa Clelia
C. Graffi
C. Zampieri
Cas.e Poggi
Vla Cocchi
C. Bondiala
C. Bassi
C. Surzini
C. Grandi
C. Bassi
C. Mistrali
C. Grandi
C. Bassi
Vla Bassi
C. Garba
C. Brazzetti
C. Gorretti
C. Guidi
C. Ghini
C. Berlinzani
Cas.e Gorretti
Rimessa Caprara
C. Gorretti
C. Calzolari
Cerodale
C. Leona
C. Minelli
C. Buratti
C. Negrini
La Leona
Budrio
C. Rivani
C. Buratti
Bologna
C. Certani
C. Neri
Cast.o Faburtino
C. Tanari
C. Pizzirani
C. Aria
C. Rambaldi
Croce del Biacco
Soavi
Giovannini
C. Tanari
C. Bassi
Bologna
solo
C. Trebbi
C. Bernardi
Vla Malvezzi
C. Androna
Ancona
C. Bondini
C. Dotti
Ponte Vecchio
C. Ghini

Istituto d'Igiene della R. Università di Cagliari

Sulle alterazioni delle paste e dei cereali dovute al "Punteruolo"

Ricerche del dott. **GIUSEPPE CAO**, assistente.

Il punteruolo, flagello dei granai, che si annida nel grano di frumento, costituisce un flagello anche per i magazzini cittadini, ove aggredisce le altre specie di cereali, le paste e le farine. L'azione di questo insetto sulla costituzione chimica e sul valore alimentare dei semi di cereali e delle paste alimentari, oltre che le alterazioni meccaniche grossolane da esso provocate formano oggetto di questo lavoro.

Il punteruolo o *Calandra granaria* o *sitophilus granarius* (*Caranҫon du blé* dei francesi, *Schwarzer Kornwurm* o *Kornrüssler* dei tedeschi) è un insetto così conosciuto, che non ha bisogno di essere descritto. Esso si riproduce all'aria libera, vivendo di solito nei granai a spese del grano di frumento che rode e perfora. Due volte all'anno le femmine depongono in un piccolo foro, che praticano nel grano, un uovo, il quale si sviluppa e dà origine ad una larva voracissima, che si nutre della parte midollare del grano, e che quando lo ha distrutto completamente raggiunge lo stato d'insetto perfetto. Il grano di frumento nel quale il punteruolo ha deposto l'uovo si riconosce facilmente, sia rintracciando, meglio con l'aiuto di una lente, il foro che l'insetto vi ha praticato, sia più tardi, quando comincia ad apparire per trasparenza la larva. Se allora togliamo con precauzione l'epicarpio riusciremo facilmente a mettere a nudo la larva bianca con la testa nera, quasi perfettamente sferica, ch'è annidata in una specie di galleria scavata nel grano. Ad un certo periodo la larva si circonda di una sorta di bozzolo trasformandosi in crisalide, d'onde si avrà l'insetto perfetto che si aprirà la via allo esterno in primavera. Del genere *Calandra* esiste in Europa un'altra specie: il *sitophilus oryzae* (*Reisskäfer* o *Reisskornrüssler*) poco dissimile dal punteruolo del frumento, dal quale si distingue da una macchietta su ogni spalla e sulle élitre, e perchè non compie il suo ciclo evolutivo all'aria libera. Il punteruolo del grano del resto, oltre che sul grano, si nutre e si moltiplica

anche sui semi di avena, di orzo, di segala, comportandosi come sul frumento. Sulle paste alimentari l'insetto perfetto produce delle erosioni non molto profonde, finchè si pasce. Quando poi è giunta l'epoca della covata, allora scava sulla superficie di esse un forellino entro cui depone un uovo. Sulle paste conservate insieme coi punteruoli, si riesce facilmente a vedere con una lente alcuni punti neri, che corrispondono appunto ai forellini in cui l'insetto ha deposte le uova. Schiusosi l'uovo, la larva si scava una galleria procedendo nello spessore della pasta o in linea retta o descrivendo delle sinuosità a seconda della forma della pasta. Nel frantumare le paste così alterate, si vedono queste gallerie, le quali rivelano la via percorsa dalla larva: esse non sono però vuote, ma ripiene di un contenuto polverulento abbastanza fitto, che è costituito di detriti e di feci. Tali gallerie si possono vedere, specialmente in certe forme di pasta, per trasparenza, presentando esse una linea di opacità che spicca sulla pasta non alterata.

Il piano del lavoro era il seguente: fare l'analisi quantitativa di alcuni campioni di cereali, di paste alimentari e di farine, innestare i campioni con un certo numero di punteruoli vivi; tenere per controllo altrettanti campioni serbati nelle stesse condizioni di temperatura e di umidità; e ripetere, dopo che le alterazioni prodotte dai punteruoli erano giunte ad un determinato grado, le analisi quantitative tanto dei campioni alterati, quanto dei campioni controllo. Alcuni campioni di paste si conservarono coi punteruoli in grandi camere umide per oltre due anni, mentre di altri campioni si fecero le analisi dopo 2-3 mesi. Il metodo generalmente osservato in queste esperienze fu questo:

Si pesavano con la bilancia di precisione, entro un pesafiltri. 20-30 grammi di semi di cereali assolutamente immuni da punteruoli, e si ponevano in scatole di vetro, immettendo in esse un certo numero di punteruoli. In altra scatola simile si poneva una quantità presso a poco eguale degli stessi cereali, pure pesati con esattezza nello stesso giorno, e si serbava come controllo insieme col campione innestato coi punteruoli nelle stesse condizioni, alla temperatura circa di 20 gradi centigradi. Il giorno stesso si cominciava l'analisi chimica del cereale messo nella scatola, e a varie epoche, man mano che procedevano le alterazioni indotte dai punteruoli, si ripeteva l'esame chimico dei due campioni, il campione controllo e quello innestato coi punteruoli.

Lo stesso procedimento si seguiva per l'esame delle paste alimentari; di esse si scelsero campioni di varia qualità e di vario taglio. e si fecero alcune analisi di farine e di semolini.

All'epoca delle varie analisi si assicurava sempre che i campioni non fossero stati invasi da alcune specie di *tyrogliphus* che pullulano

facilmente sui detriti organici, e avrebbero potuto alterare i risultati di alcune analisi.

Ho detto più su qualche cosa della vita del punteruolo; dirò ora come si comporta nei vari terreni di nutrizione. I punteruoli vivi erano stati raccolti o da campioni vecchi di cereali o in alcuni granai e magazzini di paste alimentari. Ed è notevole come la stessa specie, la *Calandra granaria*, alligni benissimo tanto sul frumento che sull'orzo, sulla segala, sul riso (che pure ha una specie sua propria il *sitophilus oryzae*) e sulle paste alimentari.

In un primo periodo i punteruoli cominciarono a rodere i semi e le paste alimentari, e così il primo stadio dell'alterazione che in essi inducevano, era prodotto dal pasto dell'insetto perfetto. Ma mentre nelle paste l'insetto rodeva senza provocare in esse delle alterazioni profonde, ed errando da un pezzo all'altro, ed attaccando a preferenza i margini e gli spigoli, forse perchè essi si prestavano meglio all'opera di erosione, nei semi di cereale rivestiti completamente dell'epicarpio le cose procedevano diversamente. L'insetto sceglieva un certo punto, di solito alla convessita del grano, e vi praticava un foro: in seguito invece di rodere in superficie, trovando men dura la parte centrale del seme, allargava il foro sino a scavare una nicchia, nella quale l'insetto si chiudeva talora completamente.

Sul fondo della scatola intanto si veniva raccogliendo una polvere composta in parte di detriti di erosione, sia delle paste che dei cereali, ed in parte di feci dell'insetto. L'esame microscopico di questa polvere metteva in evidenza dei granuli d'amido liberi, delle cellule dell'epicarpio, delle spore di muffe, cocchi, bacilli e delle conglomerazioni di feci formate. Alcune piastre fatte coi detriti polverulenti di una pasta alimentare dettero origine a numerose colonie di muffe, a colonie di b. sottile, colonie di *b. coli*, di cocchi, di b. *fluorescens*, di sarcine. Dopo queste primo periodo i semi dei cereali apparivano perforati, con nicchie più o meno grandi, che in ogni caso non comprendevano che una piccola porzione del grano. E questo non era pel resto menomamente modificato. Le paste alimentari dopo questo periodo presentavano una modificazione non molto notevole dei caratteri fisici.

A parte le erosioni con sede d'elezione sui margini più facilmente attaccabili, come dicevo più sopra, la superficie delle paste alimentari ha levigatezza comune e si presenta coperta di un polverio finissimo: al colore bianco cereo si è sostituito un bianco sporco e opaco. ed osservata alla lente esse appaiono in molti punti delle macchioline scure, dovute molto probabilmente a feci. Guardate per trasparenza invece si vede che in luogo di conservarsi trans-

lucide, sono diventate leggermente opache. Dopo un certo tempo. venuta l'epoca della covata, gl'insetti errano per la scatola, e si accoppiano rimanendo accoppiati per 1-2 settimane. Compiuta la fecondazione i maschi muoiono e le femmine si occupano della nutrizione e della protezione della prole. E qui incomincia un secondo periodo nell'alterazione dei semi e delle paste. Il punteruolo femmina scava sia nel grano a traverso l'epicarpio, che alla superficie delle paste alimentari un piccolo foro entro cui deposita un uovo.

Schiusosi l'uovo, la larva voracissima comincia il suo lavoro di distruzione, ch'è assai più efficace di quello che si compie per opera diretta dell'insetto perfetto. Nel grano di cereali la larva si scava una nicchia che va sempre più allargando nutrendosi a spese delle pareti fino a che tutta la parte centrale del seme è distrutta. Allora la larva si trasforma in ninfa da cui non tarda a svilupparsi l'insetto perfetto, che perfora la parete del grano aprendosi una via all'esterno. In molti semi l'opera di distruzione è così completa che non rimane che l'invoglio esterno, ed i semi schiacciati fra le dite si accasciano completamente come delle vesciche svuotate; lacerando quest'involto non fuoresce che poca quantità di residuo polverulento. Nelle paste alimentari invece, che non hanno alcun invoglio di maggior consistenza, l'alterazione procede in modo alquanto diverso. Specialmente nelle paste a taglio di una certa grandezza, come certi ditali lisci o rigati e lasagnoni, la larva scava delle lunghe gallerie rette o tortuose, lasciandosi dietro un detrito polverulento addensato di feci e di polvere di pasta, che riempie quasi completamente tutto lo spazio a traverso il quale essa è passata. Quando il ciclo vitale del punteruolo si è compiuto con lo sviluppo del nuovo individuo che si apre una via all'esterno, le alterazioni delle paste alimentari sono assai spiccate.

Alcune forme di paste p. es. le lasagne larghissime, liscie si prestano mirabilmente per questa osservazione, e di esse conservo alcuni campioni assai dimostrativi. La pasta ha perduta quasi completamente quel certo grado di semitrasparenza, che ha quando è intatta; la superficie biaco-sporca è coperta di polvere come se fosse stata incipriata. Guardando i pezzi per trasparenza, si vedono nettamente le gallerie scavate dalla larva, ripiene di feci e detriti, che spiccano come striscie completamente opache sulla parte di pasta non alterata. In alcuni punti anche ad occhio nudo, ma meglio con l'aiuto di una lente, si vedono i forellini scuri nei quali l'insetto ha deposto l'uovo. Nelle singole gallerie si rintraccia facilmente, anche se esse non sono aperte all'esterno, ad un capo il pun-

ticino nerastro in cui fu deposto l'uovo, all'altro capo un'area più o meno scura che corrisponde alla larva morta o alla ninfa o all'insetto perfetto che non è ancora riuscito ad aprire una breccia alla sua prigione. Le paste così alterate hanno perduto il loro peso specifico, e sono in oltre divenute friabili, mentre le porzioni sane conservano, forse aumentata, la durezza primitiva. In alcuni campioni che conservo coi punternoli da oltre due anni, le alterazioni sono divenute straordinarie. I grossi pezzi di pasta sono leggerissimi; scossi, lasciano cadere notevole quantità di residuo polverulento, di cui si trova abbondante raccolta sul fondo della scatola di vetro. Il lavorio dei parassiti avendo proceduto fin quasi ad esaurimento, i pezzi di pasta sono perforati in ogni verso; è tutto un lavoro di ricamo che facilmente si distrugge schiacciandolo fra le dita. Se si apre alcuna di queste grosse camere umide, in cui da lunga pezza furono conservate le paste innestate, si sente un certo odore che ricorda quello dell'acido valerianico. Questo stesso odore in grado assai più notevole, si sente quando si pone a disseccare il detrito nella stufa di Wiesnegg per la determinazione della percentuale d'acqua, o quando comincia la combustione di esso nel crogiolo di platino nelle determinazioni delle ceneri.

In complesso si notò che il punteruolo vive e cresce rigogliosamente sui semi dei cereali ed egualmente nel frumento, nell'orzo, nella segala e nel riso. Dopo circa sei mesi dall'innesto dei punteruoli si trova che circa il 25-40 % degli insetti immessivi sono morti (comunemente negli insetti il maschio muore dopo la fecondazione) ma se ne trovano molti altri delle nuove covate, talora in numero maggiore di quelli che vi si trovavano originariamente. Nelle paste alimentari, ed in alcune forme specialmente, pare che i punteruoli trovino un terreno di nutrizione singolarmente favorevole, poichè vi si riproducono più rigogliosamente che in campioni di frumento tenuti in eguali condizioni.

Mentre sul grano e sugli altri cereali, come pure sui vari campioni di paste alimentari, il punteruolo vive rigogliosamente, e vi si moltiplica abbondantemente, ciò non avviene nelle farine.

In alcuni campioni di farina di prima qualità furono immessi 20 punteruoli. Dopo cinque mesi la farina presentava bensì qualche alterazione, (vedi tabella) ma dei punteruoli i tre quarti erano morti, e solo un quarto viveva una vita stentata. Nei semolini poi, che paiono terreni di nutrizione ancora peggiore, dopo un mese o due tutti i punteruoli immessivi si trovarono morti. La ragione di questo fatto devesi cercare nella forma polverulenta del mezzo, che non permette

la protezione delle uova e forse neanche l'accoppiamento, mancando un punto di appoggio alle zampe dell'insetto. Per quanto il punteruolo sia abituato a rodere il cibo, per qualche tempo pare si possa nutrire anche di farina. Ciò proverebbe la modificazione della composizione centesimale di essa dopo che vi rimasero per alcuni mesi i punteruoli. Occorre però notare che gl'insetti di continuo vi si capovolgono, e mancando loro un punto di appoggio assai difficilmente riescono a raddrizzarsi e rimangono delle ore agitando le zampe in moti vani ed esaurienti.

L'esame chimico consistette sempre nella determinazione dell'acqua, del grasso, delle sostanze azotate e delle ceneri. Per differenza si determinavano poi complessivamente gli idrati di carbonio, altre sostanze estrattive e la cellulosa.

Si faceva l'analisi preventiva dei semi di cereali e delle paste alimentari che si dovevano innestare coi punteruoli. Poi a varie epoche si ripeteva l'analisi dei campioni di controllo e dei campioni innestati, tenendo conto della perdita di peso verificatasi nei campioni di controllo pel disseccamento naturale, per l'irrancidamento dei grassi, ecc. Si faceva l'analisi del residuo polverulento che si separava dai frantumi grossolani di cereali o di paste con uno staccio o metallico finissimo; e nelle paste alterate si faceva una doppia analisi: delle parti alterate e delle porzioni ad esse contigue, ma visibilmente sane.

Il metodo d'analisi seguito fu quello che si adopera comunemente per la determinazione del valore nutritivo delle sostanze alimentari.

La determinazione del contenuto di acqua si faceva tenendo la sostanza nella stufa di Wisnegg fino a peso costante.

Il contenuto d'azoto si determinava col metodo Kjehldal modificato. I grassi o in genere le sostanze solubili nell'etere erano determinati valendosi dell'apparecchio del Sohxlet o anche della modificazione del Cerkez, che si serve di un matraccio qualsiasi nel quale tiene immersi i cartocci contenenti la sostanza in esame.

Determinato infine il residuo minerale coll'incenerimento, si otteneva per differenza la cifra indicante gli idrati di carbonio e la cellulosa.

Ragguagliando fra di loro i risultati delle diverse analisi appare come il punteruolo modifichi notevolmente la composizione chimica sia delle paste che dei cereali. In quanto alla modificazione della percentuale originaria di acqua, essa è insignificante, ed una modificazione presso a poco eguale si verifica anche indipendentemente dall'azione dei punteruoli nelle paste e nei cereali lasciati all'aria per un tempo piuttosto lungo. Assai più rilevante è la mo-

dificazione del contenuto di azoto, nelle paste e nei cereali sui quali ha vissuto e si è moltiplicato il punteruolo. La quantità di azoto rilevata col saggio di Kjehldal risulta enormemente aumentata. Da ciò non devesi certamente indurne che aumenti nelle paste alimentari alterate dai punteruoli il numero delle molecole albuminoidee e quindi il valore nutritivo di esse, il che sarebbe assurdo. L'aumento di azoto corrisponde ad aumento di composti azotati provenienti dal ricambio organico dell'insetto, e verisimilmente, per massima parte, a composti urici delle feci. Non era possibile in modo alcuno nei residui polverulenti delle paste alimentari e dei cereali, sui quali avevano vissuto a lungo i punteruoli, separare le feci dai detriti di erosione, e quindi non si potè fare un'analisi chimica delle feci dei punteruoli. Ma l'esame microscopico della polvere in questione dimostrò costantemente che una gran parte di essa era formata di feci: quindi si deve ritenere che l'analisi chimica delle feci dei punteruoli non sarebbe riuscito essenzialmente diversa dall'analisi dei residui polverulenti. Certamente quindi l'aumento di azoto nelle paste e nei cereali alterati e nei residui non corrisponde ad aumento di molecole albuminoidee, ma ad aumento di prodotti azotati di regressione della vita del punteruolo.

Come prova di controllo volli praticare l'analisi chimica delle feci di altri coleotteri, e raccolsi a tal uopo un certo numero di insetti appartenenti ai generi *Blaps*, *Achis*, *Helenophorus* e *Tentyria* e li tenni chiusi in scatole di vetro raccogliendo giornalmente le feci che poi, riunitane una certa quantità nel pesafiltri, analizzavo (V. Tabelle). Ora si vede che i risultati di questa analisi si accostano singolarmente a quella dei residui polverulenti delle paste e dei cereali alterati coi punteruoli. La differenza più spiccata fra i due gruppi di risultati sta nell'alta percentuale di residuo inorganico delle ceneri che si trovano nelle feci dei coleotteri. Ma questa differenza non deve stupire: i punteruoli cibandosi solo di sostanze assai povere di residuo inorganico non possono lasciare nella combustione delle feci molte ceneri. Mentre i grossi coleotteri, le feci dei quali sottoposi ad esame eransi nutriti in campagna di detriti organici misti a polvere del suolo, che passava a traverso il loro intestino indigerita aumentando la percentuale di ceneri delle loro feci. Spiegata la ragione perchè nel residuo polverulento si trovi un così alto contigente di azoto, si spiegano benissimo i risultati delle analisi delle paste alimentari, e dei cereali alterati dai punteruoli per quanto concerne il contenuto di sostanze azotate. E poichè le paste e i cereali alterati contenevano sempre maggiore quantità di azoto che le paste e i cereali

della stessa qualità intatti, e poichè potevano stabilirsi quasi sempre le proporzioni dirette fra progresso delle alterazioni e contenuto di azoto, e poichè in oltre mai nelle paste e nei cereali alterati si riscontrò tanto azoto quanto nei residui polverulenti, è evidente che l'aumento dell'azoto deve attribuirsi ai prodotti di regressione dei punteruoli, e che in tanto aumentava nelle analisi la percentuale di azoto, in quanto si erano accumulati nel campione preso in esame i prodotti di regressione nel ricambio organico del punteruolo.

Corrispondentemente all'aumento delle sostanze azotate si trovò costantemente una diminuzione assai notevole degli idrati di carbonio. Un leggero aumento si ebbe invece nel contenuto di grasso.

In complesso si vede, che il fatto capitale che domina le alterazioni nella composizione chimica delle paste e dei cereali invasi dai punteruoli, è l'inquinamento di essi per opera dei materiali di regressione, e quindi tanto maggiore è questo inquinamento, e tanto più spiccatamente parrà alterato, rispetto alle cifre normali, il rapporto fra sostanze azotate e gli idrati di carbonio. Il punteruolo vivendo e moltiplicandosi sulle paste e sui cereali e sulle farine, vi determina due tipi di alterazioni: chimico-biologica e meccanica, corrispondenti ai due diversi gradi di progressione nell'opera dell'insetto ed al tempo in detta opera impiegato. Su uno di questi tipi non val la pena di fermarsi. Quando l'insetto ha svuotato il grano di frumento, od ha ridotto le paste alimentari a somigliare a lavori di traforo od a pezzi di spugne. non occorre l'analisi chimica per dimostrare che frumenti e paste sono inservibili, e come tali, a parte il danno economico, non presentano un pericolo per l'igiene. Maggiore importanza ha l'altro tipo di alterazione indotta dal punteruolo, e specialmente per quanto riguarda le paste alimentari e le farine. *Paste e farine su cui hanno vissuto anche per un tempo non lungo i punteruoli hanno acquistato un odore sgradevole caratteristico, ed è modificato l'aspetto fisico di esse: le paste hanno perduto la loro lucentezza e sono divenute opache e polverose.*

Il maggior contenuto di azoto non corrisponde ad una maggior ricchezza di molecole albuminoidee, ma a prodotti di rifiuto che rendono questo azoto non assimilabile; d'altra parte essendo diminuito il contenuto di idrati di carbonio scema il valore nutritivo delle paste e delle farine così alterate.

Cagliari, 1 giugno 1902.

TABELLA I.

Frumento e farine.

N. d'ordine	SOSTANZE SOTTOPOSTE AD ESAME	Media di analisi	Acqua	Sostanze azotate	Grassi	Carboitrati	Ceneri
1	Frumento preso in esame al principio dell'esperienza.	3	12.05	14.21	1.78	70.12	1.84
2	Frumento. Dopo tre mesi. Analisi dei grani alterati.	2	10.64	16.04	1.72	69.85	1.79
3	Frumento. Dopo tre mesi. Analisi del campione controllo.	2	10.92	14.28	1.82	71.13	1.85
4	Frumento. Dopo sei mesi. (Dopo la covata). Analisi dei grani alterati.	2	9.80	18.41	1 68	68.29	1.82
5	Frumento. Dopo sei mesi. Analisi dei grani sani.	1	10.78	14.04	1.84	71 47	1.87
6	Frumento. Dopo sei mesi. Analisi della polvere residuale.	2	13.24	29.36	3.22	50.80	2.38
7	Frumento conservato da due anni e quasi completamente svuotato.	1	14.12	28.00	3.98	52.75	6.65
8	Frumento conservato. Analisi della polvere residuale stacciata.	2	13.50	31.45	4.75	44.95	5.35
9	Farina prima qualità	1	13.01	11.04	1.01	74.22	0.72
10	Farina di prima qualità in cui vissero per sei mesi 20 punteruoli.	2	11.28	15.04	1.81	71.03	0.84

TABELLA II.

Orzo, lenticchie, segala, risone e riso tedesco.

N. d'ordine	SOSTANZE SOTTOPOSTE AD ESAME	Media di analisi	Acqua	Sostanze azotate	Grassi	Carboitrati	Ceneri
1	Orzo sano.	1	13. 40	9. 82	1.62	72. 46	2.70
2	Orzo avariato profondamente dal punteruolo.	2	12. 50	18. 72	3. 71	59. 92	4. 24
3	Orzo. Polvere residuale stacciata. . .	1	12. 91	31. 42	2. 94	48. 81	3. 92
4	Segala	1	12. 18	9. 94	1. 82	73. 11	3. 05
5	Segala avariata dai punteruoli e polvere residuale.	1	14. 01	23 72	4. 54	50. 54	7. 18
6	Lenticchie polverizzate.	1	12. 04	22. 08	1. 92	61 45	2. 51
7	Lenticchie avariate (dal punteruolo delle lenti).	1	11. 82	31. 41	3. 01	48. 36	2. 12
8	Risone sano	1	12. 11	7. 04	0. 94	79. 12	0. 79
9	Risone avariato dai punteruoli . . .	2	14. 01	13 14	2 46	68. 38	2. 01
10	Riso tedesco innestato da due anni (chicchi sani).	1	13. 81	9. 15	0.80	75 26	0. 98
11	Riso tedesco innestato da due anni (chicchi avariati).	2	12. 98	11. 04	1. 91	73. 13	0. 94
12	Riso tedesco innestato da due anni (polvere residuale).	2	12. 18	27. 07	2. 22	57 49	1. 04

TABELLA III.

Paste alimentari.

N. d'ordine	SOSTANZE SOTTOPOSTE AD ANALISI	Media di analisi	Acqua	Sostanze azotate	Grasso	Carboitrati	Ceneri
1	Paste alimentari. Campione *A*, maccheroni sottili e pieni.	2	13.78	7.65	0.67	77.30	0.55
2	Paste alimentari. Campione *B*, maccheroni grossi e bucati.	1	14.01	9.86	1.39	73.57	1.13
3	Paste alimentari. Campione *C*, grossi ditali rigati.	1	12.98	9.15	0.90	75.87	1.10
4	Paste alimentari. Campione *D*, lasagnoni lisci.	2	13.72	8.92	0.87	75.55	0.94
5	Paste alimentari. Campione *A*, dopo tre mesi.	1	11 42	11.71	1 18	74.58	1.11
6	Paste alimentari. Campione *B*, dopo tre mesi.	1	11.90	12.50	0.92	73.37	1.31
7	Paste alimentari. Campione *C*, dopo sei mesi (parte sana).	1	11.50	12 10	0.98	74.44	0.98
8	Paste alimentari. Campione *C*, dopo sei mesi (parte sana e residui polverulenti).	1	12.14	18.75	2.01	65.81	1.19
9	Paste alimentari. Campione *D*, dopo sei mesi (parte sana).	1	12.12	14.04	1.21	71.81	0.82
10	Paste alimentari. Campione *D*, dopo sei mesi (parte sana e residui polverulenti).	1	13.05	22.14	2.04	61.76	1.01
11	Paste alimentari. Campione *a*, innestata da due anni.	2	10.41	39 04	2.14	47.50	0.91
12	Paste alimentari. Campione *a*, innestata da due anni (residui polverulenti).	2	11.72	49.18	8.02	30.01	1.07
13	Paste alimentari. Campione *b*, innestata da due anni.	2	13.52	28.20	14.67	33.21	1.40
14	Paste alimentari. Campione *b*, innestata da due anni (residui polverulenti).	2	11.01	34.71	10.02	42.88	1.38

TABELLA IV.

Analisi delle feci di alcuni coleotteri, come termine di confronto con le analisi delle feci dei punternoli.

N. d'ordine	SOSTANZE SOTTOPOSTE AD ANALISI	Media di analisi	Acqua	Sostanze azotate	Grassi	Carboitrati	Ceneri
1	Feci di coleotteri. Genere Blaps. . . .	1	13. 20	49. 60	4. 80	10. 00	22. 40
2	Id. id. Tentyria . .	1	14. 70	51. 80	3. 90	11. 60	18. 00
3	Id. id. Achis . . .	1	12. 90	39. 90	6. 50	19. 00	21. 70
4	Id. id. Helenophorus	1	15. 20	44. 70	5. 10	17. 60	17. 40

TABELLA V.

Tabella comparativa fra le analisi dei residui polverulenti delle paste e dei cereali alterati dai punternoli e la media delle analisi delle feci di altri coleotteri.

N. d'ordine	SOSTANZE SOTTOPOSTE AD ANALISI	Acqua	Sostanze azotate	Grassi	Carboitrati	Ceneri
1	Media delle analisi delle feci delle 4 specie di coleotteri.	14. 00	46. 50	5. 08	14. 55	19. 87
2	Polvere residuale stacciata di orzo (vedi Tav. I, n. 3).	12. 91	31. 42	2. 94	48. 81	3. 92
3	Polvere residuale di frumento, dopo 6 mesi (vedi Tav. I, n. 6).	13. 24	29 36	3. 22	50. 80	2 38
4	Polvere residuale di frumento stacciata, dopo 2 anni (vedi Tav. I, n. 8).	13. 50	31. 45	4. 75	44. 95	5. 35
5	Polvere residuale di paste alimentari. Campione *a*, innestata da 2 anni (vedi Tav. III, n. 12).	11. 72	49. 18	8. 02	30. 01	1. 07
6	Polvere residuale di paste alimentari. Campione *b*, innestata da 2 anni (vedi Tav. III, n. 14).	11. 01	34. 71	10. 02	42. 88	1. 38
7	Polvere residuale di riso tedesco innestato da 2 anni (vedi Tav. II, n. 12).	12. 18	27. 07	2. 22	57. 49	1. 04

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA

Studi sul carbonchio ematico

Memoria V.

Sostanze ad azione coagulante e necrotica e ad azione emolitica.

Ricerche del Dott. O. CASAGRANDI.

Dopo gli studi da me intrapresi sino dal 1898 per scoprire la produzione di un veleno solubile nelle colture del bacillo del carbonchio e quelle di un veleno nel corpo del germe, coi quali si potesse spiegare il meccanismo patogenetico dell'infezione carbonchiosa, e si giungesse a dare basi esatte ai mezzi di immunizzazione verso l'infezione stessa, ho accumulato una serie di fatti e di osservazioni, che ora espongo, riepilogando e chiudendo la serie delle mie ricerche.

Riferisco quindi, nella presente memoria, le esperienze fatte intorno ai veleni primari e secondari che possono prodursi nell'infezione carbonchiosa, con speciale riguardo da un lato alle sostanze dotate di azione coagulante e necrotica e dall'altro a quelle dotate di azione emolitica (1).

---

(1) Queste esperienze furono iniziate con un piano di studio prestabilito nelle sue linee generali. Ma via via venivano a sollevarsi molte quistioni collaterali che esigevano essere trattate come altrettanti lavori a parte. Di qui il bisogno di associare altri nello studio degli argomenti singoli onde potere accumulare molteplici ricerche e dirigerle verso un medesimo fine.

A tutti quei volonterosi colleghi che mi prestarono l'opera loro o mentre facevano la tesi di laurea, o mentre già medici si esercitavano in questo Istituto nella pratica batteriologica, rendo vive grazie. In particolar modo poi mi sento grato al dott. V. Martelli che si occupò delle ricerche sui succhi degli organi degli animali carbonchiosi, al dott. B. Bracci che si occupò di quelle dei succhi degli organi degli animali sani, al dott. G. Valenti che studiò gli estratti nucleoproteidici del b. del carbonchio, al dottor A. Bajardi che si occupò dello studio dei prodotti colturali del b. del carbonchio, e agli altri colleghi che citerò man mano nel testo del lavoro.

PARTE PRIMA.

Sostanze ad azione coagulante e necrotica.

Atteso specialmente il fatto che gli estratti acquosi, ricavati a 400 atmosfere dai residui dei succhi degli organi di animali carbonchiosi, erano dotati di azione fortemente coagulante, e più particolarmente attesa l'intensità dell' azione coagulante e necrotica dello estratto di fegato di coniglio carbonchioso, ho cercato di approfondire lo studio dell'azione degli estratti degli organi di animali carbonchiosi, non senza tener di mira quella degli organi di animali sani, e quella del contenuto della cellula batterica, parendomi non del tutto soddisfacenti ed esaurienti gli studi già fatti e resi di pubblica ragione.

A tal uopo distinguo le mie ricerche in due gruppi: le une dirette a mettere in evidenza le sostanze coagulanti e necrotiche nel succo degli organi e a ben separarle da quelle degli organi normali; le altre dirette a scoprire la natura di tali sostanze e la loro provenienza o dal batterio, o dai tessuti.

CAPITOLO I.

Ricerche sulla presenza di sostanze coagulanti e necrotiche negli organi degli animali carbonchiosi.

1. *Azione dei succhi degli organi spappolati.*

Diressi le ricerche anzitutto allo scopo di vedere se nel succo di vari organi presi insieme si potesse dimostrare una sostanza coagulante diversa da quella che ordinariamente posseggono gli organi normali.

A tal uopo inoculai una serie di conigli con delle colture virulente di bacilli del carbonchio e nel periodo preagonico o appena dopo la morte sezionati gli animali, estrassi con le massime cautele il fegato, i reni, i polmoni, il cuore, le ghiandole, i muscoli, li triturai bene in un mortaio insieme a sabbia sterilizzata e poi sottoposi il materiale alla pressa del Buchner a 350 o a 400 atmosfere.

Il succo ottenuto filtrai subito alla carta, servendomi di filtri sterilizzati, aiutando la filtrazione con l'aspirazione.

Quando il succo era molto denso e la filtrazione alla carta si rendeva difficile, la facevo all'amianto o al cotone sempre servendomi di filtri sterilizzati.

Il materiale filtrato, inoculato sottocute anche in piccola proporzione difficilmente si assorbe e poichè in esso i germi del carbonchio non sono esclusi, così l'animale finisce col morire di carbonchio.

Inoculandolo nel peritoneo nulla si nota di particolare; gli animali muoiono di carbonchio in 2-3-4 giorni.

Inoculandolo infine nelle vene, generalmente si ha la morte immediata dell'animale. E dico generalmente perchè qualche coniglio riesce a sopportare la dose che per la maggioranza è assolutamente mortale.

Riporto a maggior intelligenza alcuni degli esperimenti fatti coll'inoculazione nelle vene:

1. Si inocularono 5 conigli (peso medio trà 1010-1200) con 0,50 cmc. di estratto di organi diluito in 5 cmc. di cloruro sodico al 0,85 %: ne sopravvisse uno del peso di 1050 gr.

2. Si inocularono 5 conigli (peso medio di 890-1100) con 0,50 cmc. di estratti di organi diluito in 5 cmc. di cloruro di sodio al 0,85 %: questi conigli morirono tutti immediatamente.

3. Si inocularono 12 conigli (peso 900-1110) con 1 cmc. di estratto di organi diluito in 5 cmc. di cloruro sodico 0,85 %: ne sopravvissero due uno del peso di 980 e l'altro del peso di 1010 gr.

4. Si inocularono 5 conigli (peso 1200-1275) con 0,50 cmc. di estratto diluito in 10 cmc. di cloruro sodico al 0,85 % in due riprese alla distanza di cinque minuti l'uno dall'altro: ne morirono quattro; il quinto del peso di gr. 891 sopravvisse.

Dopo queste prime prove grezze studiai l'azione dei succhi di singoli organi sperimentando quelli del cuore, dei polmoni e della milza insieme; del fegato e dei reni insieme; del cuore, della milza, del fegato, dei reni, del cervello, dei muscoli, delle ghiandole ciascuno partitamente.

In questi esperimenti, nei quali ebbe gran parte anche il dottor Martelli vennero inoculati di carbonchio 120 conigli e 2 pecore.

I risultati delle inoculazioni endovenose dei succhi furono uguali a quelli precedentemente indicati: però si ebbe una percentuale di sopravvissuti maggiore in seguito all'inoculazione dei succhi dei polmoni, della milza e delle ghiandole: nessuno ne sopravvisse di

quelli inoculati coi succhi del fegato, dei reni e del cervello dei muscoli.

Ciò in parte si può rilevare dal seguente elenco di esperimenti:

1. Si inocularono coi succhi di cuore, polmoni e milza 12 conigli: nessuno sopravvisse all'inoculazione di 0,50 cmc. di succo diluito in 5 cmc. di acqua distillata.

2. Si inocularono, col succo di fegato e reni, 11 conigli: nessuno sopravvisse all'inoculazione di 0,50 cmc. di succo diluito in 5 cmc. di acqua distillata.

3. Si inocularono 6 conigli coll'estratto di ghiandole di circa 18 conigli morti di carbonchio, lavate bene prima in acqua distillata per liberarle dal liquido gelatinoso che circonda le ghiandole sottocutanee: di questi conigli uno solo morì subito: e gli altri sopravvissero (1).

4. Si inocularono 5 conigli nelle vene coll'estratto di milza di 18 conigli morti di carbonchio: di questi, due morirono subito: altri tre sopravvissero.

2. *Azione dei succhi degli organi sterilizzati con sostanze chimiche.*

Insieme al Martelli tentammo di sterilizzare i succhi per togliere loro l'azione del bacillo del carbonchio vivente per il quale gli animali finiscono poi col morire di infezione carbonchiosa. A tal uopo ci servimmo dei succhi di organi di un asino morto di carbonchio: a questi dopo averli centrifugati a lungo aggiungemmo diversi antisettici fra i quali poi demmo la preferenza all'acido fenico. Col succo di fegato fenicato inoculammo 4 conigli e 7 cavie, sottocute, in proporzioni diverse. Dei conigli tre morirono di carbonchio e ne sopravvisse uno che era stato inoculato con 1 gr. di succo diluito in 10 cmc. di acqua sterilizzata. Delle cavie tre ne morirono di carbonchio e quattro sopravvissero.

Col succo poi con cui erano stati inoculati il coniglio e le cavie che si erano salvati, procedemmo alle inoculazioni endovenose nei conigli, dalle quali risultò che l'azione *coagulante energica dei succhi degli animali carbonchiosi si ha anche con i medesimi succhi sterilizzati* (2).

---

(1) Quando dico sopravvissero, intendo dire che in seguito all'iniezione endovenosa non morirono subito: va da sè che non essendo il materiale sterile, morirono poi successivamente in due-tre giorni d'infezione carbonchiosa.

(2) Naturalmente si praticarono altri esperimenti coi succhi di organi di animali sani.

A tal uopo oltre a sperimentare miscugli di succhi di organi di conigli e cavie, esperimentai anche quelli di pecora, di gatto, ecc. per farmi un'idea esatta del modo di agire di organi di animali diversi. I risultati collimarono perfettamente coi precedenti. I singoli estratti inoculati nelle vene di conigli, li uccidevano senz'altro: pochi furono gli animali che sopravvissero. Inoculati nel sottocutaneo difficilmente si riassorbivano.

3. *Azione dei succhi filtrati allo Chamberland.*

Sperimentai dapprima succhi dei diversi organi insieme, e cioè di cuore, polmoni, milza, fegato, reni, ghiandole linfatiche di conigli infetti, e poi singolarmente quelli di milza e di fegato. I conigli inoculati furono 22 tra quelli inoculati nelle vene e quelli inoculati nel peritoneo e nel sottocutaneo: tutti sopravvissero. Nello stesso modo si diportarono i succhi di organi di animali sani.

Si può quindi ritenere che *i filtrati allo Chamberland di organi di animali carbonchiosi siano privi di qualsiasi azione come quelli appartenenti ad animali sani.*

4. *Azione dei succhi filtrati al carbone, non centrifugati e centrifugati.*

Filtrai gli organi attraverso al carbone di storta che si usa per gli esami chimici o a carbone animale più o meno compresso, entro cilindri appositi (1). Ottenni così dei succhi i quali si mostravano forniti di una azione coagulante meno energica se inoculati nelle vene, ma che uccidevano ancora gli animali di carbonchio.

Passai allora a centrifugare il materiale filtrato al carbone, protraendo la centrifugazione più a lungo che fosse possibile, tenendo in ghiaccio il materiale nell'intervallo tra una centrifugazione e l'altra (2).

I succhi usati furono quattro: due di cuore, polmone, fegato, milza, e reni di conigli carbonchiosi, uno di fegato di pecora carbonchiosa, uno di fegato di asino carbonchioso.

Inoculandoli nelle vene, ebbi dei risultati molto soddisfacenti, poichè quelli che dopo la filtrazione al carbone uccidevano p. es. un coniglio inoculato con 4 cmc., dopo centrifugati, bisognava inocularli pressochè in dose doppia per ottenere lo stesso effetto. Ecco alcuni esempi:

Coniglio, peso 1270 gr., sopporta la inoculazione nelle vene di 5 cmc. del centrifugato di 9 ore del succo filtrato al carbone, di cuore, polmone, fegato, milza, reni di conigli carbonchiosi. Dopo 15 minuti si inoculano gradatamente, cmc. per cmc., da 6 sino a 15 cmc. A questo punto, lasciato a sè, dopo 8 minuti muore.

Coniglio (controllo), peso 1180 gr., inoculato nelle vene con 5 cmc. dello stesso filtrato al carbone non centrifugato, muore dopo 1 minuto.

---

(1) Cfr. *La tecnica della filtrazione.* Questi Annali, vol. X, 1900.

(2) Queste ricerche, che vennero da me fatte nel settembre del 1899 furono parzialmente ripetute anche quando l'Istituto si fornì di una splendida centrifuga elettrica.

Coniglio, peso 1130 gr., inoculato con 3 cmc. nelle vene di succo di fegato di pecora carbonchiosa filtrato al carbone centrifugato per 14 ore non muore: si seguita a inocularne gradatamente cmc. per cmc. da 4 sino a 10 cmc., quindi si lascia a sè, e dopo 5 minuti muore.

Coniglio (controllo), peso 1145 gr., inoculato con 3 cmc. nelle vene collo stesso succo filtrato al carbone non centrifugato, dopo 1 minuto muore.

Coniglio, peso 990 gr., si inocula nelle vene gradatamente cmc. per cmc. da 3 sino a 8 con succo di fegato di asino carbonchioso filtrato al carbone e centrifugato per 14 ore e poi si lascia a sè: dopo $^{1}/_{2}$ ora è ancora vivo; si inoculano ancora altri 2 cmc. e si lascia a sè: dopo 25 minuti muore.

Coniglio (controllo), peso 1000 gr., inoculato nelle vene con 5 cmc. di succo di fegato di asino carbonchioso, filtrato al carbone: l'animale muore quasi immediatamente dopo, terminata l'inoculazione.

Risulta quindi dalle ricerche suesposte che il ***materiale coagulante del succo degli organi viene trattenuto completamente dal filtro di Chamberland, incompletamente dal filtro a carbone, e del pari incompletamente viene separato a mezzo della centrifugazione.***

5. *Azione dei succhi tenuti a diverse temperature.*

A tal uopo preparai succhi di polmone, cuore e milza, fegato e reni, da 6 conigli morti di carbonchio; li filtrai alla carta aiutandomi come sempre coll'aspirazione e pói al carbone di storta. Dopo tre ore di manipolazione ottenni un liquido limpido più o meno colorato in rosso-bruno che distribuii entro 24 tubetti e posi in bagni maria per 1^h alle seguenti temperature: 40°-45°-47°-50°-55°-60°-65°-70°-75°-80°-90°-100°.

Con questi succhi inoculai nelle vene 15 conigli ottenendo questi risultati:

Coniglio, peso 1070 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 40, muore dopo 4 minuti:
Coniglio, peso 1025 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 45, muore dopo 5 minuti:
Coniglio, peso 764 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 50, muore dopo 11 minuti:
Coniglio, peso 980 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 55, muore dopo 8 minuti:
Coniglio, peso 1130 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 60, muore dopo 4 minuti:
Coniglio, peso 1155 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 65, muore dopo 1 minuto:
Coniglio, peso 1130 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 70, muore dopo 1 minuto:
Coniglio, peso 1145 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 75, muore dopo 1 minuto:
Coniglio, peso 1250 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 80, muore dopo 1 minuto:
Coniglio, peso 1110 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 85, muore dopo 1 minuto:
Coniglio, peso 1020 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 90, muore dopo 1 minuto:
Coniglio, peso 1015 gr., inoculati 7 cmc. succo tenuto a 100, muore dopo 1 minuto.

Cioè i succhi tenuti a 40-45-50-55 uccidono gli animali inoculati nelle vene come quelli appena estratti; però con un po' più di ritardo se tenuti a 50°-55°.

I succhi tenuti a temperature superiori a 60°, invece uccidono gli animali rapidamente.

Per spiegarmi questo ultimo fatto, tenendo conto che molte sostanze albuminoidi al disopra di 60° coagulano, ho filtrati i succhi, tenuti a queste temperature, attraverso 2-3 fogli di carta bibula e li ho inoculati ai conigli nella stessa quantità di 7 cc.

E così ho veduto che la *temperatura di 55° basta per togliere ai succhi l'azione mortale;* se quindi muoiono gli animali inoculati con succhi tenuti a questa, e a temperature superiori, ciò succede per la introduzione in circolo di sostanze albuminoidi coagulate.

6. *Azione dei succhi filtrati al carbone, disseccati nel vuoto a temperatura ordinaria e a 45°.*

I succhi filtrati al carbone li posi in essiccatori a calce o a cloruro di calcio a temperatura ordinaria e a 45° facendo l'essiccamento col vuoto.

Ottenni così il materiale secco che lasciai vario tempo all'oscuro, poi tritatolo finamente lo ripresi con acqua e l'inoculai nelle vene dopo averlo filtrato attraverso a un foglio di carta bibula.

Sperimentai specialmente col fegato, coi reni e col polmone e riuscii qualche volta anche inoculando 10 cmc. di filtrato (risultante dall'azione di 3 parti d'acqua su 1 di materiale) a non ottenere la morte dell'animale.

Prolungando poi la dimora dell'essiccato nell'essiccatore alla temperatura di 45°, gli animali inoculati più non morivano. Almeno due conigli del peso medio di 970-1100 gr., inoculati con 10 cmc. nelle vene collo stesso materiale che un mese prima aveva ucciso i conigli, nella quantità di 5 cmc. sopravvissero. Viceversa li uccideva ancora lo stesso materiale tenuto a 37° in recipienti col vuoto, e sempre s'intende tritato, ripreso con acqua, filtrato e inoculato in quantità di 7 cmc.

L'azione prolungata della temperatura a 45° e del vuoto attenua quindi l'azione dei succhi degli organi.

7. *Azione dei succhi precipitati mediante la miscela etereoalcoolica o l'acido acetico.*

I succhi di cuore, polmoni, milza, fegato e reni, di conigli morti di carbonchio, li precipitai anzitutto mediante la miscela etereoalcoolica.

I precipitati venivano raccolti, messi nell'essiccatore a cloruro di calcio nel vuoto, polverizzati e sciolti nelle proporzioni di un gr. di polvere in 50 cmc. d'acqua con cloruro sodico al 0.85 %.

I risultati possono enunciarsi così: tutti i precipitati sciolti in acqua, non filtrati alla carta, inoculati nelle vene dei conigli, li uccidono immediatamente: ma se filtrati alla carta solo eccezionalmente uccidono qualche coniglio.

Precipitai poi altri succhi con acido acetico e il precipitato trattai con cloruro sodico al 0.85 %. Poi inoculai 3 conigli con 10 cmc. del liquido e con 10 cmc. dello stesso materiale filtrato: i primi tre morirono immediatamente e gli altri tre sopravvissero. Tentai anche di avere precipitati frazionati. Perciò ai succhi degli organi aggiunsi tanto alcool assoluto sino ad avere un primo precipitato, poi filtrai, e al filtrato aggiunsi ancora alcool sino a ottenere un altro precipitato.

Il primo precipitato si ebbe quando la miscela segnava 15 gradi all'alcoolometro Gay Lussac; l'altro si otteneva quando la miscela segnava al di sopra di 30 gradi allo stesso alcoolometro.

Questi due precipitati seccati nell'essiccatore al vuoto, triturati, ripresi con acqua distillata si diportano nella stessa maniera: inoculati negli animali per la via endovenosa li uccidono immediatamente: se però si filtrano alla carta si dimostrano senza azione.

I precipitati comunque ottenuti sono discretamente solubili in acqua alcalinizzata mediante soda o carbonato sodico, e in questo caso filtrati alla carta ed inoculati nei conigli per via endovenosa li uccidono. Inoculandoli sottocute e nel peritoneo mostransi dotati di azione irritante, locale, anche se sono estratti con carbonato sodico all'1 % invece che con soda o potassa diluita.

Ho a lungo studiato questi estratti e mi sono potuto convincere che il miglior mezzo per ottenerli è il seguente:

I succhi degli organi ottenuti a 400 atmosfere si trattano con l'alcool assoluto sino ad ottenere un precipitato. Il precipitato si lascia nell'alcool per circa otto giorni, indi si filtra e il filtrato raccolto si secca in un essiccatore Hoempel a calce, facendo anche il vuoto, poi si raccoglie, si tritura e se ne prelevano date quantità di cui si fanno soluzioni sature in carbonato sodico al 0.25 %.

Con questo metodo studiai gli estratti dei succhi dei diversi organi di animali carbonchiosi e sani che inoculai per la via endovenosa, sottocutanea ed endoperitoneale di conigli, e per la via sottocutanea ed endoperitoneale di cavie, come risulta dal seguente specchietto:

Soluzione satura in carbonato sodico al 0.25 °/₀ di precipitati alcoolici dei succhi di organi di animali carbonchiosi estratti a 400 atmosfere

Organi	Animali sperimentati			Quantità inoculata	Luogo di inoculazione	Esito
	Specie	Peso	Temperatura			
		grm.		cmc.		
Cuore, polmone, fegato, milza e reni.	Coniglio	970	38.0	10	Sottocute	In ambedue i conigli fatti locali che finiscono in necrosi della cute.
	Id.	1180	37.9	20	Id.	
	Id.	1250	39.0	6	Nelle vene	Morte immediata.
	Id.	980	38.1	5	Id.	Id.
	Cavia	325	..	5	Sottocute	Identico reperto che nei conigli inoculati sottocute.
	Id.	291	..	5	Id.	
	Id.	300	..	5	nel peritoneo	Muore per fatti secondari in seconda giornata.

dove si vede che *essi hanno la stessa azione dei succhi degli organi che non hanno subìto alcun trattamento.*

Inoculai allora gli estratti alcalini di ciascun organo partitamente e dell'edema gelatinoso sottocutaneo di conigli inoculati di carbonchio sotto la cute, allo scopo di vedere se uguale azione spiegassero gli estratti nucleoproteidici degli organi stessi e venni ai risultati seguenti:

Estratto alcalino di	Specie di animale	Peso dell'animale	Temperatura	Quantità di liquido inoculato	Luogo di inoculazione	Esito
		grm.		cmc.		
Fegato	Coniglio	920	38. 0	5	Vene	Morte immediata.
	Id.	1120	38. 1	5	Id.	Id.
	Id.	630	37. 6	5	Id.	Id.
	Id.	1350	39. 1	5	Id.	Id.
	Id.	1125	37. 0	5	Id.	Id.
	Id.	990	..	10	Sottocute	Indurimento, necrosi escara.
	Id.	1260	..	10	Id.	Id.
	Cavia	410	..	5	Id.	Id.
Reni	Coniglio	1190	..	5	Vene	Morte immediata.
Milza	Id.	1130	..	5	Id.	Id.
	Id.	1270	..	5	Id.	Morte dopo 1 ora.
Cuore	Id.	690	..	5	Id.	Morte immediata.
Muscoli	Id.	890	..	5	Id.	Id.
Glandole . . .	Id.	835	..	5	Id.	Id.
	Id.	1210	..	5	Id.	Morte dopo 30 minuti
	Id.	1300	..	5	Id.	Id 10 id.
	Id.	1230	..	5	Sottocute	Id.
	Id.	1362	..	10	Id.	Id.
Sangue	Id.	910	38. 0	5	Vene	Sopravvive.
	Id.	950	37. 0	5	Id.	Id.
	Id.	1335	..	5	Id.	Id.
	Cavia	450	..	5	Sottocute	Nulla che fermi l'attenzione.
	Id.	360	..	5	Id.	Id.
	Coniglio	1170	..	5	Id.	Id.
	Id.	1275	..	5	Id.	Id.

Estratto alcalino di	Specie di animale	Peso dell' animale	Temperatura	Quantità di liquido inoculato	Luogo di inoculazione	Esito
		grm.		cmc.		
Sangue.	Topo	182	..	5	Sottocute e nel peritoneo	Nulla che fermi l'attenzione.
	Coniglio	1230	..	10	Vene	Id.
	Id.	1300	..	10	Sottocute	Id.
	Id.	1275	..	10	Peritoneo	Id.
	Id.	1210	..	10	Sottocute	Id.
Edema gelatinoso.	Id.	1300	..	10	Id.	Id.
	Id.	1230	..	10	Id.	Id.
	Id.	1362	..	5	Id.	Id.
	Id.	1353	..	5	Id.	Id.
	Id.	1335	..	5	Id.	Id.
	Id.	1275	..	5	Peritoneo	Id.
	Id.	1170	..	5	Id.	Id.
	Id.	1200	..	10	Id.	Id.
	Id.	1190	..	5	Vene	Id.
	Id.	1210	..	5	Id.	Id.
	Id.	1100	..	5	Id.	Id.
	Id.	1045	..	10	Id.	Id.
	Id.	850	..	10	Id.	Id.

Dalle tabelle precedenti si rileva che gli estratti alcalini degli organi degli animali carbonchiosi, inoculati per la via endovenosa, uccidono immediatamente gli animali. Inoculati nel sottocutaneo hanno azione irritante locale: sono meno attivi gli estratti delle ghiandole linfatiche e quelle della milza: il sangue e l'edema sottocutaneo non hanno alcuna azione (1).

8. *Azione degli estratti glicerici.*

Per ottenere questi estratti seguii due procedimenti, cioè o trattai i succhi seccati e polverizzati con glicerina al 5 per cento (1 di succo su 25-50 di glicerina), per 24 ore e poi li filtrai alla carta; oppure trattai i succhi, del pari seccati e polverizzati, con glicerina pura neutra e poi dopo 24 ore aggiunsi tanta acqua distillata sterilizzata da farne una soluzione glicerica al 5 per cento.

Tanto con l'uno, quanto coll'altro procedimento ottenni i medesimi risultati inoculandoli nel sottocutaneo (poichè nelle vene non potevo farlo a causa della glicerina) cioè una forte azione necrotica, che non posseggono estratti analoghi di organi sani.

9. *Azione degli estratti dei residui degli organi dopo l'estrazione del succo a 300-400 atmosfere.*

Per studiare l'azione di questi estratti procedetti come segue: pressai a 300 atm. gli organi degli animali carbonchiosi, uccisi nel periodo preagonico, e quando non potei più ricavarne alcun succo liberai dall'involucro di tela la sabbia con la poltiglia degli organi spremuti, e poi il tutto posi a macerare parte nella soluzione fisiologica di Na Cl al 0. 85 per cento, parte nel carbonato sodico al 0, 25 per cento, per 12-24 ore ed a temperatura bassa.

Poi con questo materiale rifeci nuovo impasto di sabbia e lo sottoposi alla pressione di 400 atmosfere nel torchio di Büchner.

---

(1) I medesimi procedimenti praticati sui succhi degli organi di conigli sani hanno condotto ad analoghi risultati.

L'estratto al carbonato sodico 0. 25 % di cuore, di muscoli, di fegato, di reni, inoculato nelle vene, uccide immediatamente gli animali. Quello di milza, polmone, e ghiandole è meno attivo: il sangue, non ha alcuna azione: però con la inoculazione sottocutanea sono meno intensi i fatti necrotici locali.

Ottenni così un estratto del residuo degli organi già pressati, e lo sperimentai col dott. Martelli nella stessa maniera dei succhi precedenti, sia inoculandolo nelle vene degli animali, sia sottocute, sia nel peritoneo, filtrato o non filtrato, precipitato, ecc., come si rileva dai seguenti quadri:

ESTRATTO ACQUOSO A 400 ATMOSFERE DEL RESIDUO DELLA COMPRESSI

Numero d'ordine	Specie di animali	Organi adoperati	Trattamento
1	Coniglio	Cuore, polmoni e milza.	Nessuno . . . .
2	Id.	Fegato e reni.	Id. . . . .
3	Id.	Cuore, polmoni e milza.	Filtrato sotto pressione con tre fogli carta bibula.
4	Id.	Fegato e reni.	Id. id. . .
5	Id.	Id.	Id. id. . .
6	Id.	Id.	Id. id. . .
7	Id.	Cuore, polmoni e milza.	Filtrato sotto pressione con 3 fogli carta bibula e poi carbone.
8	Id.	Fegato e reni.	Id. id. . .
9	Id.	Cuore, polmoni e milza.	Filtrato sotto pressione al carbone storta.
10	Id.	Fegato e reni.	Id. id. . .
11	Id.	Cuore, polmoni e milza.	Filtrato sotto pressione al carbone anim
12	Id.	Fegato e reni.	Id. id. . .
13	Id.	Cuore, polmoni e milza.	Filtrato allo Chamberland . . . . . .
14	Id.	Fegato e reni.	Id. id. . .
15	Id.	Cuore, polmoni e milza.	Filtrato alla carta, al carbone, all Chamberland.
16	Id.	Fegato e reni.	Id. id. . .
17	Id.	Cuore, polmoni, fegato, reni e milza.	Seccato a 40°, ripreso con cloruro sodi
18	Id.	Id. id.	Filtrato alla carta, al carbone secca a 40°, ripreso con cloruro sodica.
19	Id.	Fegato e reni.	Id. id. . .
20	Id.	Cuore, polmoni e milza.	Filtrato alla carta, al carbone, tenu 24 ore nel vuoto.
21	Id.	Fegato e reni.	Id. id. . .
22	Id.	Cuore, polmoni, fegato, reni e milza.	Seccato a 40° e centrifugato . . . .

GLI ORGANI DI CONIGLI CARBONCHIOSI GIÀ SPREMUTI A 300 ATMOSFERE

uantità	Luogo di inoculazione	Esito	Controllo con estratti di animali sani inoculati in conigli
cmc.			
2	Vene	Morte istantanea	Morte istantanea. 3 su 7
2	Id.	Id.	Id. 1 su 1
2	Id.	Id.	Id. 6 su 8
2	Id.	Id.	Id. 1 su 3
5	Nel peritoneo	Muore dopo 36 ore d'infezione secondaria	Id. 1 su 1
5	Sottocute	Muore dopo 48 ore con ascesso cancrenoso nel sito d'inoculazione.	Id. 1 su 1
2	Vene	Morte istantanea	Id. 1 su 1
2	Id.	Sopravvive	Sopravvive. . . . 1 su 1
2 1/2	Id.	Morte istantanea	Morte istantanea 1 su 1
2 1/2	Id.	Id.	Id. 1 su 1
2	Id.	Id.	Id. 1 su 1
2	Id.	Id.	Id. 1 su 1
5	Id.	Sopravvive	Sopravvivono. . . 2 su 2
5	Id.	Id.	Sopravvive. . . . 1 su 1
7	Id.	Id.	Id. 1 su 1
7	Id.	Id.	Id. 1 su 1
5	Sottocute	Id.	Sopravvivono. . . 4 su 4
5	Id.	Muore dopo 4 giorni d'infezione secondaria	Id. 3 su 3
5	Vene	Sopravvive	Sopravvive. . . . 1 su 1
20	Id.	Muore dopo 36 ore.	Id. 1 su 1
10	Id.	Muore dopo 24 ore.	Id. 1 su 1
5	Vene e sottocute	Sopravvive	Id. 1 su 1

Dal quadro precedente si rileva che gli estratti, comunque ottenuti, dal residuo della spremitura degli organi a 400 atmosfere mantengono ancora l'azione coagulante dei succhi prontamente estratti e si diportano del tutto identicamente a quelli degli organi sani.

Però a parità di condizioni durante gli esperimenti fatti, parevami di poter notare che *i succhi di organi di animali carbonchiosi spiegano in un grado più intenso l'azione irritante locale e l'azione coagulante.*

Per decidere bene la questione feci estratti acquosi di fegato di conigli sani e carbonchiosi, come si può vedere nella tabella seguente:

Estratto acquoso filtrato alla carta ottenuto a 400 atmosfere dal residuo della spremitura a 300 atmosfere del fegato di conigli

Carbonchiosi					Sani				
Animale inoculato	Peso	Luogo di inoculazione	Quantità inoculata	Esito	Animale inoculato	Peso	Luogo di inoculazione	Quantità inoculata	Esito
	grm.		cmc.			grm.		cmc.	
Coniglio	920	Sottocute	5	Fatti locali, necrosi.	Coniglio	1250	Sottocute	5	Fatti locali, senza necrosi.
Id.	1000	Id.	5	Id.	Id.	1120	Id.	5	Bozza che si assorbe.
Id.	1250	Id.	5	Id.	Id.	1100	Id.	5	Id.
Id.	1300	Id.	5	Id.	Id.	1210	Id.	5	Id.
Id.	620	Nelle vene	4	Morte immediata.	Id.	990	Nelle vene	10	L'animale rimane un po' intontito ma si rià.
Id.	1350	Id.	4	Id.	Id.	1010	Id.	12	Id.
Id.	1300	Id.	2	Morte dopo 1 ora.	Id.	1000	Id.	5	Id.
Id.	1250	Id.	2	Morte immediata.	Id.	980	Id.	10	Muore dopo 4 ore.

CAPITOLO II.

Ricerche sulla natura della sostanza coagulante e necrotica dei succhi degli organi di animali carbonchiosi

Era frattanto necessario:

1. Vedere di qual natura fosse la sostanza che si dimostrava capace di produrre la coagulazione del sangue e i fatti necrotici locali.

2. stabilire bene se essa fosse in diretta dipendenza del batterio o dell'organismo infetto, ovvero dell'uno e dell'altro.

I tentativi fatti a tal uopo furono innumerevoli e ora più e ora meno confortati da risultati positivi. Enumererò così le quistioni che ho tentato di risolvere:

1. *Il bacillo del carbonchio produce nelle brodocolture, sostanze coagulanti e nel contempo ad azione necrotica?*

2. *Il bacillo del carbonchio contiene nel suo corpo sostanze ad azione coagulante e necrotica che si rendano libere nell'organismo degli animali infetti?*

3. *Si trovano negli animali infetti di carbonchio sostanze coagulanti che si producano nell'organismo durante l'infezione carbonchiosa?*

1. *Ricerche di sostanze coagulanti nelle colture.*

Ho saggiato il potere coagulante delle brodocolture filtrate al carbone, alla carta, allo Chamberland, concentrandole nel vuoto a bassa temperatura, essiccandole e ridisciogliendole in acqua, inoculandole poi direttamente nelle vene di coniglio, o facendole agire su plasma ossalato di coniglio, ma costantemente con risultato negativo.

Ho pensato di servirmi del plasma non ossalato e ho preferito ricorrere a quello di oca ricavato col metodo di Bordet e Gengou che riesce assai bene nella pratica (1), ma del pari ebbi risultato negativo.

Ho tentato quindi colture in albuminati alcalini, secondo il metodo da me proposto (2), in gelatina proteolizzata e in altri terreni,

(1) *Coagulation du sang, etc.* Ann. Pasteur, tome XV, 1901.
(2) Mem. IV. Questi Annali, vol. X, 1900,

senza potere però dimostrare che questi materiali esplicassero azione coagulante nè in vivo, nè in vitro.

Ho anche seminato il bacillo in plasma ossalato di coniglio, nel plasma non ossalato di oca senza notarvi alcuna coagulazione benchè il germe vi si sviluppasse bene (1).

Cosicchè ho finito col ritenere che *nelle colture non è dimostrabile la presenza di una sostanza coagulante prodotta dal B. del carbonchio.*

2. *Ricerche di sostanze coagulanti nel corpo batterico.*

Sino dalle prime ricerche del Nencki nel 1884 è nota la possibilità di estrarre dal corpo del bacillo del carbonchio una sostanza solubile in alcali, precipitabile con acidi diluiti e non contenente zolfo, la quale dà la reazione del biureto, sostanza cui l'A. pose il nome di *proteina del carbonchio.*

Successivamente sono stati estratti dal bacillo del carbonchio sostanze analoghe e anche in questo istituto il Grenga trovò nel bacillo del carbonchio una sostanza dotata di intensa azione locale e marantica e il Carnevali studiando l'azione negli estratti acquosi, alcalini, e dei residuati della estrazione etereoalcolica di vari germi tra cui quello del carbonchio trovò nel corpo di questo germe una sostanza ad azione coagulante sul sangue.

Niun dubbio dunque che dal bacillo del carbonchio si potessero estrarre sostanze capaci di esplicare un'azione necrotica locale e un'azione coagulante sul sangue. Occorreva però precisarne bene la natura e la proprietà. Epperò, ottenute grandi patine di carbonchio sull'agar, raccoltele, e lavatele, le ho sottoposte a diversi trattamenti, cioè:

a) al disseccamento, alla triturazione, al lavaggio in soluzione sodica;

b) all'estrazione con carbonato sodico 1 per cento e successiva precipitazione con acido acetico;

c) all'estrazione con soluzione fisiologica di cloruro sodico servendomi della pressa del Buchner a 400 atmosfere e della successiva centrifugazione in presenza di cloroformio;

d) all'azione plasmolitica di soluzioni saline più o meno concentrate;

e) all'azione batteriolitica della caseina, di amidoacidi, dei fermenti peptici.

(1) Anzi avendo innestato il bacillo nel plasma coagulato di coniglio e di oca ho assistito alla dissoluzione del coagulo ossia al fenomeno perfettamente inverso.

a) *Proteina carbonchiosa estratta secondo il metodo di Koch.*

5 grammi di patina secca si triturano in un mortaio, si diluiscono con 50 cmc. di acqua e vi si lasciano macerare a 0° per 48 ore. Si centrifuga il materiale ripetutamente e si raccolgono i due strati che chiameremo il superiore Cbr. O e l'inferiore Cbr. R.

Si inocula il primo in due conigli nelle vene; questi ne sopportano senza danno 15 cmc. Si inocula lo stesso nel sottocutaneo di altri due conigli: si forma una bozza che a poco a poco si riassorbe.

Si inocula il secondo in un coniglio: dopo l'inoculazione di una piccola quantità, l'animale rimane come istupidito e dopo 8 ore muore. Sezionato si trova il sangue non coagulato, anzi più fluido: osservammo però insieme al Valenti coaguli nei capillari del bulbo.

Lo stesso materiale inoculato sottocute produce una bozza che a poco a poco si riassorbe, lasciando la pelle incartapecorita, assottigliata, di guisa che in sesta giornata essa si distacca lasciando una superficie necrotica che guarisce per seconda intenzione.

b) *Proteina carbonchiosa estratta secondo il metodo di Lustig-Geleotti per l'estrazione dei nucloproteidi del b. della peste.*

25 grammi di patina carbonchiosa fresca si diluiscono in 6-7 volumi di carbonato sodico all'1 per cento e si lascia a sè il miscuglio per 3 giorni a 4° C.; si filtra attraverso due fogli di carta bibula, e si precipita con acido acetico.

Il precipitato si raccoglie, si ridiscioglie in carbonato sodico al 0.25 per cento e si riprecipita.

Si scioglie quindi a saturazione in una miscela che ho trovato non essere emolitica per i corpuscoli rossi di coniglio, fatta da una parte di carbonato sodico al 0.25 per cento e di 4 parti di cloruro sodico al 0.85 per cento, e si inocula nelle vene e nel sottocutaneo di conigli.

I conigli inoculati nelle vene sopportano l'inoculazione di 5-7 cmc. e poi muoiono coi soliti fenomeni che susseguono all'inoculazione nelle vene dei nucloproteidi. Quelli inoculati nel sottocutaneo presentano in terza giornata vaste zone necrotiche da cui la pelle si stacca numularmente in modo caratteristico.

Quest'azione locale intanto si esercita anche sui vari organi: il Valenti che ha inoculato questo estratto nucloproteidico nell'occhio dei conigli ha concluso col ritenere che l'azione del nucloproteide del carbonchio, portato a contatto della cornea, è identica a quella di una sostanza caustica, quale ad esempio l'ammoniaca, la soda o un acido qualunque. Sul parenchima corneale e congiuntivale si comporterebbe come negli altri tessuti determinando infiltrazioni e necrosi ed un'attiva emigrazione leucocitaria senza però che nelle cellule dei tessuti si presentino spiccati caratteri degenerativi (1).

---

(1) *Azione del nucleo-proteide del carbonchio sull'occhio dei conigli.* Archivio di oftalmologia. Palermo 1902.

c) *Proteina estratta con soluzioni di NaCl 0.85 °/₀ mediante la pressa del Buchner.*

Raccolsi il maggior numero di patine fresche sviluppatesi su agar sino ad avere 120 gr. di materiale: le mescolai con altrettanto NaCl al 0.85 °/₀ e poi lo impastai bene con sabbia finissima sterilizzata e precedentemente lavata a lungo e poi seccata.

Il tutto pressai gradatamente, avvolto in tela resistentissima mediante il torchio di Buchner, fino a portare la pressione a 500 atmosfere. Raccolsi così un liquido che divisi in tre tubi, aggiunsi qualche goccia di cloroformio, e subito centrifugai mediante la potente centrifuga elettrica dell'Istituto.

Il liquido ottenuto divisi in altri tubi sterili che posi a 0° dopo averne fatte colture da campioncini presi con ansa di platino. Dei 24 tubetti in cui avevo distribuito il liquido 8 mostrarono contenere il bacillo del carbonchio 16 no. Da questi 16 quindi prelevai il materiale per l'inoculazione nelle vene e nel sottocutaneo dei conigli.

Ebbi i seguenti risultati:

4 conigli inoculati nelle vene di cui 2 con 5 cmc. e gli altri con 10, morirono tutti. Dei due primi, l'uno dopo 2 ore, e il secondo dopo 7 ore. Dei secondi, uno morì dopo 14 minuti, l'alro dopo 30. L'esame macroscopico rivelò fluidità grande del sangue: il microscopico, presenza di coaguli nei capillari della milza e del bulbo.

2 conigli inoculati sottocute l'uno con 5 cmc., l'altro con 9 (non mi rimaneva altro liquido sterile) presentarono nelle prime 48 ore una bozza nel sottocutaneo: la pelle si assottigliò, in seguito divenne aderente e rimase così come mummificata nel primo inoculato con 5 cmc.; nel secondo si distaccò in 7ª giornata lasciando la solita zona necrotica nel sottocutaneo: i due conigli dimagrarono anche notevolmente ma non morirono (1).

Proteina estratta per mezzo di soluzioni saline plasmolitiche.

10 grammi di patina carbonchiosa, da agar, trattai con soluzione satura di cloruro sodico a 0° per 5 giorni, dializzai quindi il materiale, raccolsi le patine rimaste sul dializzatore, le sbattei bene in una soluzione di cloruro sodico al 0.85 per cento e l'inoculai nelle vene e nel sottocutaneo di conigli.

Due conigli inoculati nelle vene, (di cui l'uno con 55 cgr. di materiale secco, e l'altro con 75 cgr.) non si risentirono della subìta inoculazione; di altri 2, uno inoculato nel sottocutaneo col restante materiale, presentò in seconda giornata un impacco locale che si riassorbì in massima parte ed in

(1) Le esperienze fatte nel 1898 col semplice estratto acquoso dei bacilli mi avevano condotto ad altri risultati perchè con la semplice estrazione con acqua distillata, specialmente senza lasciare in essa macerare a lungo i germi non si estraggono che minime quantità di proteina come ho potuto in prosieguo dimostrare: le esperienze del Grenga furono più soddisfacenti appunto perchè lasciava macerare nell'acqua il materiale piuttosto a lungo.

quarta giornata morì di carbonchio: l'altro fu sacrificato dopo tre giorni, e mostrò nel sottocutaneo il materiale inoculato sopra una vasta superficie iperemica.

Evidentemente da queste esperienze si deduce che il *nucloproteide del bacillo del carbonchio passa attraverso la membrana animale e non si trova che in minima quantità sul dializzatore.*

Proteina carbonchiosa estratta col metodo di estrazione delle batteriolisine secondo il Gamaleïa.

Ho già fatto rilevare che il Gamaleia avrebbe trovato che certe sostanze, come la caseina e certi amidoacidi, estrarrebbero le sostanze batteriolitiche dal bacillo del carbonchio (nucleasi di Emmerich), e che un metodo generale per la ricerca delle stesse, sarebbe quello di trattare i germi con gli enzimi digerenti precipitando poi la miscela filtrata con etere ed alcool; il precipitato sarebbe costituito dalla sostanza batteriolitica. Senza addentrarmi nella questione che sarà fra breve risolta da altri, dirò che ho sottoposto patine del bacillo del carbonchio a questo trattamento, per vedere se i materiali che se ne ricavavano avessero l'azione delle proteine.

Ho quindi sciolto della caseina in acqua ammoniacale procurando di farne una soluzione non satura e nel liquido ottenuto, filtrato alla carta, ho aggiunto patine fresche di carbonchio sviluppato su agar, quindi ho posto l'emulsione nel termostato a 37°.

In breve, la caseina rigonfia i bacteri, li riduce in granuli, sicchè colorando col bleu di metilene di Löffler non rimane che un intreccio di tubi scolorati attorno ai quali si trovano moltissimi piccoli granuli colorati in bleu.

Il liquido filtrato alla carta, inoculato nelle vene uccide immediatamente i conigli, ma non si tratta di un'azione dovuta all'estratto del corpo batterico, perchè anche la soluzione di caseina la possiede; nè vale precipitarla con alcool e ridiscioglierla in acqua alcalina perchè si incontra lo stesso risultato. Inoculato cioè nel sottocutaneo di conigli il liquido ha azione flogogena per l'azione della caseina, anche indipendentemente dal materiale estratto.

In vista di tale risultato, sostituii alla caseina un amido-acido e a tutti preferii l'alanina o acido amidoaspartico che, insieme al Condelli, constatai avere azione del pari batteriolitica e che inoculata nelle vene e nel sottocutaneo non mostra di avere la minima azione verso i conigli, le cavie, i cani, i topi (1).

Ho allora trattato patine batteriche a 37° con soluzione di alanina al 10 per cento. Il liquido dopo 3-8 giorni l'ho filtrato alla carta, e allo Chamberland e l'ho inoculato nelle vene e sottocute a conigli senza ottenere alcun risultato. Ho pure pensato di concentrarlo e precipitarlo: ma anche con questi due procedimenti, non sono riuscito a dimostrare la presenza in esso di sostanze ad azione coagulante e necrotica. *Quindi con le sostanze batteriolitiche usate non si estrae dal bacillo del carbonchio alcuna sostanza coi caratteri delle proteine carbonchiose.*

---

(1) Ne ho inoculati sottocute in una sola volta nei cani del peso di 2 kg. sino a 10 gr., nei conigli sino a 5 gr. e nelle vene 2 gr. senza osservare alcun fatto degno di nota.

3. *Ricerche di sostanze coagulanti negli organi inoculati con bacilli del carbonchio.*

Di fronte al fatto indiscusso che dal corpo del bacillo del carbonchio è lecito poter estrarre una sostanza dotata di azione coagulante e necrotica mediante i procedimenti che servono ad estrarre i nucloproteidi, ho voluto vedere se la proteina venisse a liberarsi negli organi per opera delle cellule dei tessuti e fosse dimostrabile e separabile dai nucloproteidi degli organi stessi.

Di ricerche fatte sul proposito non se ne conoscono: però in un lavoro del Radziewshy (1) è indirettamente studiata l'azione dei tessuti sui batteri, specie in rapporto alla distruzione che avviene di essi negli organismi infetti, dal quale lavoro risulta che anche nell'infezione carbonchiosa grandissimo è il numero dei germi che viene a morire e a distruggersi.

Pensai allora di inoculare colture carbonchiose nelle vene e nelle arterie dei singoli organi dei conigli sani, e legati i vasi afferenti ed efferenti estirpare gli organi, chiuderli in massa in paraffina bollita e dopo vario tempo dall'avvenuta inoculazione toglierli dall'involucro dalla paraffina e fare quindi le relative estrazioni. Poichè il lavoro meritava importanza anche sotto altri punti di vista (trasformazioni morfologiche del bacillo, durata in vita dello stesso, ecc.), ho dato a studiare la questione al dottor Chiarizia; il quale è venuto alla conclusione che per es. nel rene di coniglio (chiuso in paraffina) il bacillo del carbonchio viene a distruggersi dopo 20-25 giorni sia o no sporificato e durante l'intervallo tra l'innesto e la sua distruzione si modifica notevolmente nella struttura, assume caratteri speciali, si attorciglia intorno al proprio asse, si spezzetta, ecc.

Ora è appunto da questi organi (nei quali i bacilli erano certamente distrutti, come lo dimostravano le colture) che ho tentato di estrarre con diversi procedimenti la proteina carbonchiosa in modo da trarne un metodo che ci potesse farla discoprire anche negli organi degli animali in preda alla infezione carbonchiosa.

Dico subito che con la plasmolisi, la batteriolisi, l'estrazione semplice con la pressa a 400 atmosfere, la filtrazione alla Chamberland dell'estratto, non si riesce a trovare niente d'interessante, e che spappolando l'organo ed estraendolo con carbonato sodico compare intensa l'azione dei nucloproteidi

---

(1) *Theorie d. bakteriellen Infect.* Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXXVII.

degli organi, la quale maschera quella delle proteine. Soltanto facendo estratti acquosi o meglio con Na Cl al 0,85 % e poi precipitando con acido acetico il materiale (ossia, adottando il metodo che presso a poco corrisponde a quello che il Carbone adopera per la estrazione del nucleoistone degli organi) si ottiene un precipitato che io credo contenere in gran parte nucleoproteide batterico.

Anzitutto colpisce la esigua quantità che se ne ricava di fronte all'estratto nucleoproteidico degli organi stessi normali o inoculati di carbonchio. In secondo luogo sciogliendolo in un eccesso di acido cloridrico e poi trattandolo con alcali in eccesso è dalla soluzione alcalina precipitabile ancora con acido acetico.

Appunto in base a quest'ultimo fatto, ho cercato di depurare meglio l'estratto acquoso degli organi sino ad avere un materiale, sul quale istituire le ricerche per cercare di identificarlo o differenziarlo dalle proteine carbonchiose.

Ecco il procedimento adottato in tutti i suoi particolari.

Si inoculano per la via arteriosa e venosa, per esempio, dei reni di conigli (ne occorrono molti essendo minimo il rendimento finale dopo tutte le sue manipolazioni), si estirpano e si immergono in paraffina bollita che si raffredda immediatamente in un bagno d'acqua: si pongono quindi i blocchi imparaffinati nel termostato a 37°-39° e dopo 20 giorni si tolgono, si liberano dalla paraffina, si spappolano in un mortaio insieme a sabbia sterilizzata, si pressano a 300 atmosfere e si raccoglie il pressato in cilindri graduati sterilizzati.

Si aggiunge quindi ad ogni volume di estratto il quintuplo di acqua sterilizzata e distillata, e si tiene nel ghiaccio il materiale più o meno a lungo. Si filtra quindi alla carta e il filtrato si precipita per mezzo di acido acetico diluito. Si raccoglie quindi il precipitato e si tratta con acido cloridico diluito, quindi si filtra e al filtrato si aggiunge alcali in eccesso e si filtra di nuovo.

Il filtrato si evapora a 37° magari favorendo l'evaporazione col vuoto: indi si precipita con poche goccie di acido acetico molto diluito.

Riportando varie volte l'operazione si riesce ad ottenere un materiale discretamente puro (1).

Quali siano le proprietà di questo materiale dico brevemente:

1° è solubile in potassa all'1 % e in carbonato sodico all'1 %;

2° è precipitabile dalle soluzioni alcaline con acido acetico diluito ed è solubile nell'acido acetico più concentrato;

3° è insolubile nei solventi dei grassi (alcool, etere, cloroformio, solfuro di carbonio);

4° è poco solubile nell'acqua distillata; però facendone una emulsione vi rimane sospeso e può passarne parte attraverso alla

(1) Si può anche, ove il maneggio dell'acido acetico riesca difficoltoso, servirsi le ultime volte della miscela eteroalcoolica per precipitare.

carta bibula e al carbone, ma non però attraverso la candela dello Chamberland;

5° è alquanto solubile nel cloruro sodico al 0.85 % e questa solubilità aumenta nelle soluzioni di cloruro sodico più concentrate.

6° dializzandolo per togliere il cloruro sodico a poco a poco scompare dal dializzatore: passa quindi le membrane animali.

7° si colora in rosa col reattivo di Millon;

8° non modifica sensibilmente il reattivo di Fehling quando è molto puro; se si ricava da una prima precipitazione si può avere una riduzione dello stesso e anche una debole reazione del biureto;

9° inoculato nella camera anteriore secondo la prova del Valenti, si mostra dotato di forti proprietà irritanti: infatti la cornea si opaca per forte infiltrazione nel punto di penetrazione dell'ago, e dopo 4 giorni si trova un essudato nelle camere anteriori. In sezione si trovano elementi cellulari rotondi generalmente polinucleati: evvi anche infiltrazione negli strati profondi della cornea: le lacune linfatiche sono dilatate: però l'epitelio corneale rimane integro;

10° sciolto nella più volte ricordata miscela non emolitica di cloruro sodico e carbonato sodico ed inoculato nelle vene, uccide i conigli anche in piccole dosi: basta infatti inoculare 5 cmc. di liquido contenente la quantità di sostanza solubile in 1 cmc. di carbonato sodico al 0,25 % per avere la morte dell'animale in seguito a coagulazione del sangue nell'albero vascolare: di tre animali così sperimentati uno che tardò 4 ore a morire, non presentò questi coaguli macroscopicamente visibili; però nei capillari del bulbo se ne trovarono degli evidentissimi mediante preparati microscopici.

11° inoculato sottocute determina una rapida infiltrazione leucocitaria, onde la formazione di una bozza che col riassorbirsi lascia tutt'attorno un'area d'infiltrazione rossastra che determina una zona la quale più o meno rapidamente cade in necrosi e si distacca.

È quindi evidente dopo quanto ho esposto che negli organi si può avere la distruzione del bacillo del carbonchio e la liberazione del suo nucloproteide il quale si può separare dai nucloproteidi normali mediante la estrazione con la soluzione fisiologica di cloruro sodico, precipitando con acido acetico, e trattando il precipitato ottenuto con alcali; il materiale che precipita dalla soluzione alcalina, riacidificandola con acido acetico, parrebbe il nucleoproteide del bacillo del carbonchio.

I risultati ottenuti dalle ricerche precedenti mettevano sulla via per dimostrare che nell'infezione carbonchiosa si producono sostanze dotate di azione coagulante e necrotica e capaci di spiegare

l'intimo meccanismo della patogenesi dell'infezione carbonchiosa e tali sostanze parevano doversi riferire ai nucloproteidi batterici che si liberano durante la morte del batterio stesso.

Prima però di giungere a una tale conclusione, volli vedere se nell'organismo infetto, indipendentemente dal corpo del bacillo del carbonchio si producono sostanze dotate di potere tossico.

Confesso che le mie ricerche rimasero senza una interpretazione che mi soddisfacesse pienamente, sino a questi ultimi tempi; quando dopo la pubblicazione dei lavori del Carbone (1) e le sue ricerche circa la importanza nel meccanismo delle setticemie del nucleoistone, tornò a essere richiamata la mia attenzione sugli estratti acquosi di organi degli animali carbonchiosi e sulle molteplici esperienze da me fatte.

Il Carbone comparando l'azione leucolitica di diverse sostanze e particolarmente dagli elementi cellulari estranei penetranti in circolo dice « ammesso così il fatto che la penetrazione degli elementi cellulari estranei al circolo è seguìta da distruzione di leucociti e che questa dà origine alla sua volta ad una serie di gravi fenomeni tossici era naturale il chiedersi se gli stessi fatti non dovessero necessariamente verificarsi nelle infezioni setticemiche allorchè l'intera massa del sangue è invasa da innumerevoli cellule batteriche » e aggiunge « a questa dimanda io credo di poter rispondere affermativamente e mi propongo di dimostrare che l'azione patogena del diplococco (e fors'anche per analogia di altri batteri) è dovuta non all'attività dei veleni da esso segregati o in esso contenuti, ma bensì al fatto che esso distrugge elementi morfologici del sangue e dei tessuti, i cui prodotti di distruzione sono tossici per l'organismo ».

Ed infatti mediante una serie di ricerche e di considerazioni, riesce a stabilire la tossicità dei prodotti di distruzione dei leucociti (di cui evvi larga distruzione nell'infezione diplococcica) e a trovare che l'azione tossica risiede nella parte nucleoistonica. Quest'azione tossica si esplica secondo l'autore « con abbassamento della pressione sanguigna, con rallentamento del respiro e con profonda narcosi: ed è legata al costituente istone in esso contenuto, il quale alla sua volta agirebbe come precipitante di nucloalbumine (globulina, fibrinogeno del sangue, delle cellule) e come inibitore dell'azione coagulante del fermento di Schmidt a cui, devesi attribuire, data la sua diffusione, una funzione essenziale nella vita delle cellule ».

Interessanti poi sono tra le ricerche del Carbone, quelle che danno ragione del perchè, accanto ai fenomeni di coagulazione del sangue coll'inoculazione di materiali leucocitici, si abbia nel resto della massa sanguigna una diminuzione di coaguli. Egli dice dapprima « i prodotti che fuoriescono dai leucociti nell'atto della sua distruzione sono diversi nelle diverse fasi del

(1) *Contributo allo studio della coagulazione del sangue. — Azione dei costituenti chimici dei linfociti* (col dott. ZANFRAGNINI). — *Sulla teoria dell'infezione da pneumococco.* Memorie R. Acc. Sc. Lett. e Arti in Modena. Serie III, Vol. III e IV.

processo e secondo le sostanze in presenza delle quali questa distruzione avviene, e possono perciò esercitare una diversa azione sulla coagulabilita del sangue.

Allorchè si cerca di produrre la minima lesione possibile del leucocito raccogliendo ad esempio il sangue con cannule ed in recipiente spalmato di vasellina, passano nel plasma insieme al fibrinogeno (che per noi non sussiste disciolto in esso, ma fuoriesce dai leucociti) grande quantità di fermenti coagulanti e scarse sostanze anticoagulanti. Così pure se si estraggono i linfociti del timo con soluzione isotonica di Na.Cl si ottiene un composto, o forse una mescolanza complessa in cui il fibrogeno è legato col nucleoistone e non è dimostrabile cogli ordinari procedimenti chimici, ma tale composto si scinde immediatamente al contatto dei sali di calce ed il fibrinogeno in presenza del fermento si converte in fibrina. Perciò noi ammettemmo fondandoci su queste esperienze in vitro, che la formazione dei coaguli endovascolari, la quale si verifica come prima conseguenza di una distruzione degli elementi morfologici del sangue (leucociti e piastrine), sia dovuta al predominio degli accennati momenti coagulanti nella prima fase del processo: successivamente si deve ammettere la fuoruscita di eomposti antagonisti, quale il nucleoistone ».

E nell'infezione da diplococco è possibile dimostrare distruzione di leucociti, diminuzione della coagulabilità del sangue e si può, secondo Carbone, aver la riprova dell'importanza dell'istone per il fatto che con questo si possono immunizzare i conigli verso l'infezione diplococcica. D'altro canto a me è stato possibile col metodo bioscopico di Neisser e Wechsberg dimostrare che il diplococco ha proprietà leucocidiche e leucolitiche evidenti anche *in vitro* (1).

In quanto al carbonchio alcuni fatti importanti facevano supporre qualche cosa di analogo.

Anzitutto io da tempo ero riuscito a immunizzare, abbastanza a lungo, pecore e conigli per mezzo degli estratti acquosi degli organi; estratti acquosi nei quali si trova, come ho potuto vedere in questi ultimi tempi anche dell'istone, mentre la immunizzazione con gli estratti alcalini fatta in seguito non era stata coronata da uguale risultato. In secondo luogo, nello studiare l'azione degli estratti acquosi inoculati nelle vene e nel tentare di immunizzare con essi i conigli notai la possibilità di avere il sangue quasi incoagulabile con l'inoculazione di determinate dosi, e coagulabile rapidamente con altre dosi.

In terzo luogo giova ricordare che nell'infezione carbonchiosa si nota come in quella diplococcica, ipoleucocitosi in seguito alla inoculazione del germe direttamente nelle vene.

D'altro canto facendo l'estratto istonico dagli organi di animali

---

(1) *Emolisine e leucolisine diplococciche.* Soc. Lancisiana Ospedali, Roma, 1902.

sani è possibile allontanare di molto il momento della morte dei conigli successivamente inoculati di carbonchio, ciò che ha veduto anche il Carbone.

In questi ultimi tempi poi ho cercato di precisare ancora meglio la quistione, procurando di estrarre l'istone direttamente dai leucociti.

A tal uopo, mi sono procurato il materiale leucocitico, inoculando nel cavo peritoneale dei conigli delle soluzioni alcaline di legumina estratta dall'aleuronato del commercio. Il liquido endoperitoneale ricavato dopo 8-10 ore dall'inoculazione, centrifugato, dà un residuo ricco di leucociti. Questi leucociti, trattati con soluzione di Na Cl al 0,85 %, impastati con sabbia e pressati al torchio di Buchner, forniscono un liquido che trattato con acido cloridrico diluito, e poi con ammoniaca (intercalando le necessarie filtrazioni alla carta, tra procedimento e procedimento) fornisce dell'istone.

Il rendimento del materiale non mi ha permesso di eseguire un numero grande di esperienze ma, ad ogni modo, quelle fatte mi diedero la convinzione che ove agli estratti istonici degli organi si sostituisca l'estratto istonico dei leucociti che si ottengono, con la inoculazione di legumina, nel cavo peritoneale di conigli sani, si possono avere risultati migliori.

Per non perdere troppo materiale, ho poi sostituito all'estrazione con la pressa, quella del gelo e del disgelo. A tal uopo ho trattato il residuo delle centrifugazioni del liquido endoperitoneale con acqua distillata gelando e disgelando l'emulsione, e quando con l'esame microscopico mi sono persuaso che i leucociti erano distrutti, ho trattato con acido cloridrico e poi il filtrato ho precipitato con ammoniaca e l'ho centrifugato. Il residuo depositatosi ho poi ripreso con Na Cl al 0, 85 % ed inoculato.

Ho così praticate 8 esperienze, in ognuna ho inoculato quattro conigli, con tutto l'istone che poteva ottenersi dai leucociti di due animali inoculati nel peritoneo con 30 cmc. di una soluzione alcalina di legumina e poi trascorse 48 ore li ho inoculati con una coltura mortale di carbonchio capace di uccidere in 72 ore il controllo. I conigli morirono, ma con ritardo: e quasi mai prima di 4 giorni, come si può rilevare da questo specchietto:

10	conigli sono morti nella	4ª	giornata.
2	» »	5ª	»
1	» »	3ª	»
19	» »	5ª	»

Parrebbe quindi di dovere ammettere che nella setticemia carbonchiosa. una *parte importante spetti anche ad una sostanza che viene*

a prodursi nell'organismo stesso, cioè al nucleoistone al quale debbono attribuirsi proprietà coagulanti in primo tempo ed anticoagulanti in secondo tempo, come ha dimostrato il Carbone; ma su di ciò mi propongo di tornare più ampiamente nella successiva memoria nella quale tratterò dell'immunità carbonchiosa.

PARTE SECONDA

Sostanze ad azione emolitica.

Si sa che molti germi sono capaci di produrre nelle brodocolture delle sostanze emolitiche e tra essi molti dei patogeni quali lo stafilococco b., il dissenterico, molti vibroni, il diplococco di Fränkel e forse il b. del tifo.

Il B. del carbonchio era da aspettarsi che producesse una sostanza analoga, attesochè durante l'infezione carbonchiosa si ha negli animali una notevole diminuzione del numero degli eritrociti. Ho quindi ricercato emolisine nelle colture e nell'organismo infetto.

CAPO I.

Ricerca delle emolosiline nelle colture.

Sui corpuscoli rossi da sangue defibrinato di coniglio ho saggiato il potere emolitico di brodocolture di 4 stipiti carbonchiosi, servendomi di colture da tempo non passate in animali; ovvero provenienti da recenti passaggi in conigli e ciò dopo 1–20 giorni di dimora dei brodi nel termostato. Quanto alla tecnica ho seguito il metodo Neisser e Wechsberg e quello che il London applica allo studio della vis emolitica dei sieri, metodo che ho fatto largamente applicare in laboratorio per studiare l'azione emolitica delle brodocolture di altri germi.

Ho così trovato col metodo del Neisser che nelle brodocolture tenute per tre giorni a 37° compare un po' di azione emolitica la quale si esplica nei tubi contenenti 0.25-0.50 di brodocoltura filtrata alla Chamberland e 1.50-1.75 di soluzione di cloruro sodico al 0.85 per cento. Quest'azione si mantiene nelle brodocoltre di 8 giorni e si vede comparire anche nel tubo contenente 1 di brodocoltura filtrata e di soluzione di cloruro di sodio al 0.85 per cento. Col metodo del London si può rilevare che il massimo di vis si ha aggiungendo 1 cmc. di brodocultura filtrata di 4-5 giorni a 1 cmc.

di emulsione di sangue defibrinato di coniglio al 5 per cento in cloruro sodico al 0.85 per cento; il minimo aggiungendo cmc. 0.40 di brodocoltura a 1 cmc. della solita emulsione di sangue.

Col metodo di Neisser-Wechsberg e col metodo del London non si riesce a mettere in evidenza alcuna azione emolitica nella coltura di 15 giorni (1).

Parmi adunque di poter conchiudere che *il bacillo del carbonchio produce nelle brodocolture deboli quantità di emolosina e che tal produzione non si ha che dopo 3-8 giorni nel brodo di Löffler.*

CAPO II.

Ricerca di sostanze emolitiche nel corpo bacillare.

Anzitutto feci in agar-agar grandi piastre di bacilli del carbonchio raccolsi le patine le seccai, le triturai in un mortaio coperto e poi le estrassi in acqua con cloruro sodico al 0.85 per cento.

Studiai l'azione emolitica di questi estratti sui corpuscoli rossi del coniglio con risultato negativo.

Preparai quindi degli estratti al carbonato sodico al 0.85 per cento (1 p.) e al cloruro sodico 0.85 (4 p.) ottenendo eguali risultati.

Finalmente estrassi con etere 2 gr. di patina secca, la trattai con soda, alcool, solfuro di carbonio, e il residuo cercai di sciogliere nella miscela di carbonato sodico al 0.25 per cento e cloruro sodico al 0.85 per cento. Nella soluzione feci cadere quindi goccie di sangue defibrinato di coniglio senza poter trovare che questi estratti proteinici fossero dotati di azione emolitica.

Ciò mi condusse a concludere che le soluzioni delle proteine carbonchiose non hanno azione emolitica, almeno finchè si ottengano coi procedimenti comuni.

Sottoposi allora alla pressa del Buchner una grande quantità di patine ed ottenni un liquido che si mostrò privo di azione emolitica.

Trattai quindi altre patine batteriche con soluzione satura di cloruro sodico, poi dializzai il materiale, e all'emulsione rimasta sulla pergamena aggiunsi gocce di sangue defibrinato di coniglio con risultati del pari negativi.

Pensai allora di trattare colture e patine batteriche con qualcuna di quelle sostanze così dette batterioliche mediante le quali il Gamaleia dice

---

(1) Ho anche cercato emolisine nelle colture in plasma ossalato di coniglio, di cavallo, di cane, di cavie, di oche, e in plasma non ossalato di oca, di coniglio, diluito con brodo di Löffler, e filtrato allo Chamberland; nelle colture in gelatina proteolizzate dal bacillo stesso; in soluzione di nucleoproteidi del carbonchio fatta in carbonato sodico al 0.25 per cento, diluita con brodo di Löffler; nelle culture in soluzioni di albumosa di Heyden e nei prodotti di demolizione dell'albumina ecc., ma sempre con risultato negativo.

essere possibile non solo estrarre dal corpo batterico degli enzimi dissolventi, ma sostanze tossiche. Trattai perciò le patine carbonchiose, anzitutto con caseina poi con alanina.

Preparai quindi una soluzione ammoniacale di caseina, che poi diluii e l'aggiunsi a colture di carbonchio in quantità doppia al volume della brodocoltura e a patine carbonchiose nei rapporti di 1 gr. di patina a 25-50 di soluzione caseinica. Posi tutto nel termostato per 1-7 giorni. Durante questo tempo, giornalmente agitai i fiaschetti, ne prelevai delle piccole quantità che filtrai alla carta e sperimentai in vitro da un lato sul bacillo del carbonchio per vedere se avevano azione, come dice Gamaleia cromatolitica e batteriolitica, dall'altro sugli eritrociti di coniglio. Il risultato fu completamente negativo.

Del pari *il liquido che si ottiene dopo che l'alanina ha cromatolizzati i bacilli, non ha azione emolitica.*

CAPO III.

Ricerche di emolisine negli organi degli animali carbonchiosi.

Per risolvere la questione volli vedere come il siero di sangue e gli estratti (con cloruro sodico al 0.85 per cento) degli organi di conigli sani e infetti si comportavano sugli eritrociti e di animali sani e di animali infetti. Trovai così che:

1. Il siero di sangue di conigli sani e infetti in qualunque periodo dell'infezione non ha azione emolitica sugli eritrociti di coniglio sia sano od infetto;

2. Gli estratti al cloruro sodico dei succhi ottenuti colla pressa a 400 atmosfere (fegato, reni, polmone, cuore, muscoli, ghiandole, cervello) dagli organi di conigli sani o malati (questi uccisi dopo vario tempo dall'avvenuta inoculazione di carbonchio), o appena morti, non ha azione emolitica sugli eritrociti di conigli sani o malati (1);

3. L'edema sottocutaneo ed il liquido endoperitoneale (questo ottenuto dall'inoculazione endoperitoneale di carbonchio) rimane, privo di azione emolitica sui corpuscoli rossi del coniglio sano e malato;

4. L'estratto al cloruro sodico di milza di coniglio carbonchioso aggiunto ai corpuscoli rossi di animale sano non ha azione emolitica; *invece l'ha sui corpuscoli rossi di animali infetti;* purchè i corpuscoli

(1) Anche se si fa l'estratto nella più volte ricordata soluzione non emolitica di carbonato sodico e cloruro sodico non si trovano nel filtrato proprietà emolitiche; anzi si possono estrarre gli organi con la miscela dei due liquidi addizionati a parti uguali senza notare nell'estratto azione emolitica, mentre di per sè sola la miscela è emolitica.

rossi appartengano a sangue defibrinato di coniglio in preda alla infezione carbonchiosa dopo non meno 18 ore dall'avvenuta inoculazione sottocutanea del virus.

Dunque si può ritenere che nel succo degli organi ad eccezione della milza, e nel sangue di conigli carbonchiosi non esiste emolisina.

Resta però a vedere quale interpetrazione dare al fatto dell'azione emolitica del succo di milza di conigli sani e carbonchiosi, sui corpuscoli rossi del sangue defibrinato di conigli in preda all'infezione.

Confesso che per molto tempo mi è stato impossibile trovare una spiegazione adatta al fenomeno. Solo recentemente dopo i lavori fatti in questo istituto sulle emolisine nella malaria, e altre ricerche da me fatte in rapporto all'emolisine diplococciche e quelle ancora inedite sui cani inoculati con siero di coniglio trattato con sangue di cane, credo di poter dare una spiegazione adatta al fenomeno (1).

Se infatti studiamo l'azione emolitica dei sieri di sangue di conigli diplococcici, di cani anemici o emoglobinurici rispetto ai corpuscoli rossi degli animali della stessa specie, troviamo che detti sieri non sono affatto emolitici, su gli eritrociti provenienti da animali sani o malati.

Se però nei cani anemici ed emoglobinurici facciamo un estratto di milza al cloruro sodico 0.85 per cento, si può avere emolisi evidente quando si aggiungano eritrociti di sangue defibrinato di cane anemico.

Così quando noi nei conigli affetti da setticemia diplococcica facciamo un identico estratto di milza e aggiungiamo a questo liquido gli eritrociti da sangue defibrinato di coniglio sano non si ha emolisi, ma si può provocare quando si aggiunge sangue defribinato di coniglio infetto (2).

Ed il Levaditi in un suo recente lavoro (3) verrebbe a dare ragione a questa interpretazione. Egli infatti ha potuto vedere che iniettando sieri emolitici inattivati in circolo si fissa la sensibilizzatrice ai corpuscoli rossi, ma la citasi si trova solo nella milza, ed è qui perciò che avvengono i maggiori fatti emolitici.

---

(1) Facendo seguito alle ricerche sulla emolisina nella malaria, il Celli, il Carducci ed io, abbiamo cercato di vedere se i corpuscoli rossi del sangue dei malarici si trovassero in circolo sensibilizzati e se la citasi emolitica esplicasse la sua azione solo in qualche organo. Frattanto ci siamo occupati di studiare la stessa quistione nei cani colpiti da anemia e da emoglobinuria, mediante l'inoculazione di siero di coniglio trattato con sangue di cane, anemia ed emoglobinuria che è possibile ottenere sperimentalmente come risulta dalle esperienze che vennero eseguite in questi ultimi tempi in questo Istituto dal Grollo per la sua tesi di laurea e su quelle che continuiamo a fare.

(2) Ciò porterebbe ad ammettere che nel sangue circolante esistano eritrociti che durante l'infezione sono semplicemente sensibilizzati e che solo in dati organi si trovino le citasi. Lo stesso fatto avviene nell'infezione colerica e tifica nelle cavie.

(3) *Étude de l'anémie expérimentale.* Annali di Pasteur, Tomo XVI, pag. 233, 1902.

Rimane ora da spiegare se l'emolisina che si produce nell'organismo sia identica a quella che il batterio, per quanto in piccola quantità, produce nelle colture.

Si può però facilmente dimostrare che l'emolisina batterica non ha relazione con l'emolisina che si produce nell'organismo.

Si filtrino brodocolture di carbonchio di cinque giorni e si inoculino nei conigli per 3 giorni consecutivi in quantità di 15 cmc. per volta, sottocute. Dopo 3 giorni si salassino gli animali e se ne ricavi il siero.

Questo siero ha proprietà antiemolitiche, poichè aggiungendolo in quantità di 0.10 cmc. a 1 cmc. di brodocultura impedisce che questa emolizzi, anche parzialmente, i corpuscoli rossi di coniglio sano. Si faccia allora un miscuglio di siero emolitico rispetto alla brodocoltura e di estratto di milza in cloruro sodico e si aggiungano corpuscoli rossi di sangue defibrinato di coniglio infetto: l'emolisi avviene.

Evidentemente dunque la sostanza emolitica delle brodocolture del carbonchio non ha che fare coll'emolisina che si trova nell'organismo in preda all'infezione.

Conclusioni.

Riassumendo i dati esposti nella presente memoria se ne possono trarre le seguenti conclusioni:

A) *Riguardo alle sostanze ad azione coagulante e necrotica* si ha che:

1. Dagli organi degli animali carbonchiosi si estraggono dei succhi o mediante semplice spappolamento o con la pressa del Buchner, i quali esplicano inoculati negli animali la medesima azione dei corrispondenti succhi degli organi di animali sani.

2. Sottoponendo i succhi degli organi degli animali carbonchiosi alla filtrazione allo Chamberland, essi perdono qualunque azione locale e generale verso gli animali da esperimento, mentre la conservano filtrati al carbone, e anche se precipitati con acido acetico o con alcool, ovvero se estratti con acqua salata o alcalina o con glicerina.

3. L'estratto acquoso di ciò che rimane del succo degli organi, pressati a 400 atmosfere, ha un'azione irritante locale più energica

di quella degli estratti corrispondenti di organi sani, e nel contempo è dotato di un'azione coagulante più energica: tale azione è poi specialmente evidente nell'estratto alcalino degli organi stessi.

4. Sostanze dotate di azione coagulante:

a) non si trovano nelle colture del germe fatte negli ordinari terreni speciali, compreso il plasma;

b) sono in piccola parte estraibili (ove non si lascino macerare a lungo nell'acqua distillata) col procedimento di Koch per la 2ª tubercolina e in più gran parte con le soluzioni saline mediante la pressa del Buchner, ma non per mezzo della plasmolisi, nè per mezzo della batteriolisi;

c) si estraggono in gran parte per mezzo dei procedimenti adatti all'estrazione dei nucleoproteidi, dei quali posseggono tutti i caratteri (solubilità in alcali, precipitabilità cogli acidi diluiti, solubilità con gli acidi concentrati, resistenza alla temperatura, diportamento verso il filtro di porcellana, ecc.).

5. Tra le sostanze coagulanti che si estraggono dagli organi di animali inoculati di carbonchio dopo la morte naturale dei germi. si trova il nucleoproteide batterico separabile dall'estratto nucleoistonico in base alla loro proprietà di precipitare dalle soluzioni alcaline per mezzo degli acidi, mentre le soluzioni nucleoistoniche precipitano con gli alcali.

6. Accanto ai nucleoproteidi batterici che si liberano negli organi degli animali infetti di carbonchio si producono altre sotanze. che hanno una netta azione sulla coagulabilità del sangue e che stando alle ricerche del Carbone debbono riferirsi a nucleoistone.

B) ***Riguardo alle sostanze ad azione emolitica*** si ha che:

1. Nelle colture in sangue, in plasma, in siero, in liquidi ricchi o poveri di albumina, il bacillo del carbonchio non produce sostanze emolitiche dimostrabili col metodo diretto, con quello di Neisser e Wechsberg e con quello di London: soltanto nel brodo di Löffler dopo 3-8 giorni si produce una emolisina a debole potere sui corpuscoli rossi del coniglio.

2. Nel corpo batterico trattato o coi metodi di estrazione delle proteine e dei nucleoproteidi, o con la plasmolisi, o con sostanze batteriolitiche non si può dimostrare la presenza di materiali dotati di proprietà emolitiche.

3, Nel succo degli organi e nel siero di sangue degli animali infetti di carbonchio non si può mettere in evidenza una sostanza

capace di emolizzare i corpuscoli rossi dei conigli: soltanto il succo di milza di coniglio sano o carbonchioso estratto con cloruro sodico ha azione emolitica sui corpuscoli rossi di coniglio carbonchioso, ma non su quelli di coniglio sano.

4. La emolisi che si avvera nella infezione carbonchiosa non è opera diretta dell'emolisina batterica, ma dell'organismo infetto ed ha luogo specialmente nella milza come nella infezione diplococcica, colerica e tifica delle cavie e dei conigli e nelle anemie sperimentali nei cani.

Istituto d'Igiene della R. Università di Roma

Studi sul carbonchio ematico

Memoria VI.

L'immunità verso il carbonchio nei suoi rapporti col meccanismo della patogenesi dell'infezione.

Ricerche del Dott. **O. CASAGRANDI.**

Queste mie osservazioni sperimentali si riassumono in una serie di tentativi per immunizzare gli animali mediante i prodotti colturali, gli estratti del corpo batterico, gli estratti degli organi degli animali sani ed infetti, gli estratti leucocitici degli animali sani, infetti, immunizzati, refrattari. Dopo le quali ricerche ho cercato di mettere in rapporto il meccanismo della patogenesi dell'infezione carbonchiosa con quello per ottenere sostanze preventive non solo per gli animali mediocremente sensibili al virus ma anche per quelli estremamente recettivi.

CAPITOLO I.

Immunizzazione coi prodotti colturali.

Sino dagli studi fatti insieme al Bernabai (1) avevo dimostrato che coi prodotti solubili delle colture in brodo di Löffler non si poteva nei conigli ottenere alcuna immunità verso l'infezione carbonchiosa e che soltanto coi prodotti solubili delle gelatino-colture vecchie, filtrate alla Chamberland si poteva salvare qualche coniglio

(1) Memoria II. Questi Annali, vol. IX, 1899.

che però riinoculato dopo 15 giorni moriva. Il Baiardi (1) continuò queste ricerche e potè trovare che le colture proteolizzate del bacillo del carbonchio lasciate invecchiare per tre mesi, sbattute con cloroformio e lasciate sedimentare nel refrigerante per qualche settimana, filtrate poi alla carta e precipitate con alcool fornivano un materiale che impartiva notevoli proprietà battericide al siero dei conigli e li salvava da ripetute inoculazioni di carbonchio per un tempo variabile dai 25 ai 62 giorni. Le cavie però non si immunizzavano neanche dopo ripetute iniezioni del precipitato anche inoculandone dosi considerevoli.

Per mio conto, ma sempre con risultato negativo, ho cercato sostanze immunizzanti in colture di carbonchio fatte in soluzioni di acido amidoaspartico, di albumosa di Heyden, dei prodotti di demolizione dell'albumina. Ho anche studiato il potere immunizzante dei filtrati di brodocolture in albuminato alcalino (2) e in plasma ossalato di coniglio e di cavia diluiti a parti uguali con brodo di Löffler, e ho potuto constatare che tali filtrati, privi assolutamente di azione tossica, inoculati nel sottocutaneo dei conigli o anche nelle vene in quantità di 10–20 cmc. salvano gli animali da due inoculazioni della dose mortale, o anche più volte mortale, del virus, e a volte da una terza e da una quarta. Nello stesso tempo studiando le proprietà del siero ho trovato che esso ha proprietà preventive ed un'azione battericida più o meno marcata. Però le cavie non si immunizzano: tutt'al più muoiono, inoculate sottocute, con scarso edema.

CAPITOLO II.

Immunizzazione con il contenuto del corpo batterico.

1. Con la proteina. — Ho già reso noto come le ricerche fatte per immunizzare i conigli mediante gli estratti batterici fatti col metodo di Koch e di Behring mi riuscissero negative.

Per quanto però esse fossero state condotte con la massima esattezza tuttavia in prosieguo ebbi a convincermi che l'estratto acquoso allora da me adoperato era povero di proteina carbonchiosa, e che il ricavato dall'estrazione col metodo di Behring (essendo stato fatto

(1) *Azione delle gelatino-colture, ecc.* Riforma medica, n. 93, anno XVIII, 1901.
(2) Memoria IV. Questi Annali, vol. X, 1900.

dopo il trattamento con acqua salata al 10 %) (1), veniva per plasmolisi ad aver ceduto prima gran parte del nucleoproteide.

2. Con nucleo proteide. — Ripetei quindi le esperienze, servendomi dell'estratto alcalino (metodo Lustig-Galeotti) e lo inoculai sottocute ai conigli in soluzioni sature fatte in carbonato sodico al 0,25 % o in carbonato sodico 0,25 % 1 p. e cloruro sodico 0,85 % 4 p. E poichè i conigli dimagravano notevolmente e presentavano fatti locali con esito in necrosi, attesi ad inoculare il carbonchio quando ritornavano al peso primitivo, cioè non mai prima di 8 giorni dall'ultima inoculazione. Eccone i risultati:

Coniglio del peso di	Luogo di inoculazione	Numero delle inoculazioni	Tempo trascorso tra una inoculazione e l'altra	Inoculazione di carbonchio dopo	Risultato
1250. .	Sottocute. . .	3	10 giorni	8 giorni	Muore di carbonchio dopo 3 giorni.
1320. .	Id. . . .	2	3 id.	20 id,	Muore di carbonchio dopo 2 giorni.
1500. .	Id. . . .	1	1 id.	7 id.	Muore di carbonchio dopo 70 ore.
1220. .	Id. . . .	1	1 id.	2 id.	Muore di carbonchio dopo 58 ore.
1310. .	Id. . . .	1	1 id.	2 id.	Muore di carbonchio dopo 3 giorni.
1200. .	Sottocute e nel peritoneo.	1	1 id.	4 id.	Muore di carbonchio dopo 3 giorni.

Dove si vede che con questo mezzo non si può provocare la immunità nei conigli. Certo però il buon esito dell'inoculazione è di molto inceppato dall'azione irritante locale, e da quella marantica del materiale.

3. Con le nucleasi. — L'azione immunizzante delle vecchie colture mi aveva a suo tempo fatto pensare che agli enzimi batteriolitici potesse attribuirsi quest'azione. Epperò cercai di estrarre dal B. del carbonchio le nucleasi di Emmerich, servendomi di quelle

(1) Nella Mem. I riferendosi il procedimento, per errore di stampa è scritto 1 % invece di 10 %.

sostanze che agiscono per cromatolisi, batteriolisi, plasmolisi e precisamente per mezzo della caseina, dell'alanina, degli enzimi digerenti, delle soluzioni saline concentrate.

a) *Estratto caseinico e alaninico.*

Grandi quantità di patine trattai con soluzione ammoniacale non satura di caseina da un canto, e con soluzione normale o al 10 % di alanina, e ciò a 37° per 8-15 giorni, in presenza di cloroformio. Filtrai quindi il materiale alla carta, lo centrifugai a lungo, lo decantai e lo precipitai con la miscela etereo-alcoolica. Il filtrato seccai a 37°, lo triturai bene in un mortaio, lo trattai ancora con cloroformio per 48 ore e poi lo sciolsi nella proporzione di 1 gm, ogni 5 cmc. di soluzione fisiologica di NaCl e lo inoculai negli animali.

Così trovai che:

1° inoculando sottocute da 5 a 20 cmc. dell'emulsione del precipitato e poi dopo 8 giorni, iniettando il carbonchio pure sottocute, i conigli muoiono circa in 3 giorni ma non presentano edema nel sottocutaneo: mentre le cavie muoiono come quelle non trattate in circa due giorni presentando copiosissimo l'edema;

2° inoculando nelle vene i conigli con piccole quantità di precipitato ben emulsionato e poi dopo 48 ore inoculandoli di carbonchio, qualche coniglio sopravvive ad una inoculazione sottocutanea di virus, ma non mai ad una seconda: in ogni caso gli animali presentano scarsissimo edema sottocutaneo, o questo manca del tutto;

3° inoculando il precipitato delle soluzioni di alanina (dopo aver con esse trattato il carbonchio) sia sottocute, che nelle vene (il materiale si può inoculare anche a grandi dosi) se la maggior parte dei conigli offre notevole resistenza al virus carbonchioso evvene però qualcuno non ne offre addirittura nessuna, senza che mi sia in alcun modo potuto dar ragione di questo fatto. Ecco gli esperimenti:

Quantità di precipitato inoculato in gr.	Luogo di inoculazione	Numero delle inoculazioni	Tempo trascorso tra una inoculazione e l'altra	Prima inoculazione di carbonchio dopo l'ultima inoculazione	Seconda inoculazione di carbonchio dopo la prima	Esito
1 . .	Sottocute. . .	1	. .	2 giorni	15 giorni	Muore di carbonchio dopo 3 giorni.
3 . .	Id. . . .	2	6 giorni	Id.	20 id.	Muore di carbonchio dopo 6 giorni.
5 . .	Id. . . .	2	8 id.	Id.	. .	Muore di carbonchio dopo 2 giorni.
1 . .	Endovenosa. .	1	. .	Id.	2 id.	Muore di carbonchio dopo 7 giorni.
1 . .	Id. . . .	4	3 id.	Id.	. .	Muore di carbonchio dopo 3 giorni.
1 . .	Id. . . .	6	3 id.	Id.	25 id.	Muore di carbonchio dopo 4 giorni.
2 . .	Id. . . .	1	. .	Id.	. .	Muore di carbonchio dopo 4 giorni.
3 . .	Id. . . .	1	. .	Id.	30 id.	Muore di carbonchio dopo 6 giorni.
4 . .	Sottocute e nel peritoneo	3	15 id.	6 id.	. .	Muore di carbonchio dopo 3 giorni.
4 . .	Id. . . .	4	3 id.	2 id.	8 id.	Muore di carbonchio dopo 2 giorni.
4 .	Id. . . .	5	3 id.	4 id.	15 id.	Muore di carbonchio dopo 2 giorni.

Nessuna cavia però mi è riuscito di salvare qualunque fosse la quantità di precipitato inoculato.

b) *Estratto con pepsina idroclorica.*

Ho trattato patine di carbonchio a 37° con pepsina idroclorica, e poi ho precipitato il liquido filtrato alla carta con la miscela etereo-alcoolica. Raccolto il precipitato l'ho sciolto in acqua sterilizzata e l'ho inoculato in tre conigli, uno sottocute, uno nelle vene e il terzo nel peritoneo. Esso si è mostrato sfornito di azione locale e generale, e di azione preventiva perchè dopo 4 giorni i conigli inoculati con una dose mortale di virus carbonchioso. morirono rispettivamente nel termine di 48, 53, 60 ore, presentando copioso edema sottocutaneo, essendosi per questa via inoculato il carbonchio.

c) *Estratto plasmolitico.*

Ho trattato per 5-6 giorni delle patine fresche di carbonchio con solu-

zione di cloruro sodico al 10 %, poi ho dializzato il materiale e ho inoculato ciò che rimaneva sul dializzatore nelle vene ad un coniglio e sottocute ad altri due in quantità di gm. 0.50 circa in ciascuno.

Dopo 4 giorni li ho iniettati di virus carbonchioso in dose mortale e tutti e tre gli animali sono morti presentando copiosissimo edema sottocutaneo.

CAPITOLO III.

Immunizzazione con gli estratti degli organi.

1. Azione di estratti semplici, filtrati, precipitati.

I tentativi fatti servendomi degli estratti degli organi di conigli, di cavie, di pecore, di un asino morti di carbonchio per immunizzare i conigli e le cavie, mi avevano dati risultati diversi a seconda del trattamento fatto subire agli estratti stessi.

Avevo trovato che qualunque succo d'organo estratto con acqua distillata, con cloruro sodico al 0.85 %, con carbonato sodico 1 %, con soda all'1 %, filtrato allo Chamberland, non immunizzava nè i conigli, nè le cavie.

Il solo edema sottocutaneo, rispose abbastanza bene nei conigli: però non riuscii a far sopportare a questi animali due dosi di seguito di virus carbonchioso introdotte sotto la pelle alla distanza di 15 giorni l'una dell'altra. Del resto anche le numerose esperienze eseguite da me e dal Martelli sui succhi estratti con la spremitura a 400 atmosfere, filtrati allo Chamberland, mi portarono a concludere che con questi liquidi non si riesce assolutamente a immunizzare alcun animale anche quando si inoculino per mesi di seguito.

Furono anche fatti tentativi per inoculare gli estratti non filtrati, ma sterilizzati con acido fenico, cloroformio, o precipitati con acido acetico, alcool o digeriti con pepsina o estratti con soluzioni saline sature, ma i risultati in riguardo all'immunità rimasero si può dire tutti negativi. Del resto si incontrano straordinarie difficoltà a sterilizzare tali succhi; poi, quando si ottengono, non si possono inoculare nelle vene per l'azione coagulante energica che posseggono, e quando si iniettano sottocute hanno un'azione irritante locale e un'azione marantica così notevole da non permettere di potersene servire come materiale immunizzante, ammeno di non attendere molto tempo. Nè risultati di molto migliori si ottengono usando gli estratti stessi centrifugati.

2. Azione degli estratti del residuo degli organi spremuti a 300 atmosfere.

a) *Estratto con soluzione fisiologica di cloruro sodico.*

Siccome durante le ricerche sulle sostanze coagulanti contenute nel succo degli organi, avevo trovati questi materiali, specialmente dimostrabili nel residuo degli organi dopo la spremitura a 300 atmosfere, diressi le ricerche su questi residui che mi avevano dato fino dal 1899 a sperare di poter con essi ottenere l'immunità nei conigli verso il carbonchio.

a) *Nelle pecore.*

Inoculai allora una pecora con 1-15 cmc. di estratto del residuo in soluzione fisiologica di NaCl (dopo aver sbattuto bene il liquido con cloroformio per 3-8 giorni) e trascorsi 45 giorni di trattamento, inoculai sottocute una dose di virus carbonchioso la quale uccideva le cavie del peso di 350 gr. in 36 ore e i conigli in 52-61 ore. Seguitai poi a inoculare l'animale sempre sottocute ogni 7 giorni con la medesima dose di virus finchè morì 12 giorni dopo la 6ª inoculazione.

All'autopsia trovai i bacilli del carbonchio rari ma presenti nella milza e nel sito di inoculazione dove si notava un impacco con leggiero edema.

b) *Nei conigli.*

Trattai ancora 8 conigli con questo stesso succo preferendo alla via endovenosa, quella sottocutanea, inoculandoli ciascuno per 5 volte di seguito con 4 cmc. Quando gli animali si furono rimessi in peso vennero inoculati con dose mortale di carbonchio, sempre sottocute.

Tre di essi morirono dopo la seconda inoculazione a distanza di 5 giorni dalla prima senza presentare edema sottocutaneo; due resistettero a tre inoculazioni dello stesso virus praticato alla distanza di 8 giorni l'una dall'altra; e, degli altri tre uno morì dopo la prima inoculazione (essendo coccidioso) e gli altri due che vennero inoculati l'uno dopo 21 e l'altro dopo 18 giorni sopportarono benissimo una prima inoculazione di virus carbonchioso.

Riinoculati dopo 30 giorni sopravvissero ad una seconda e riinoculati ancora dopo altri 15 giorni sopravvissero ad una terza inoculazione. Però dopo 12 giorni ne morì uno, ma nè nel sangue nè negli organi si trovarono bacilli coltivabili, e l'altro fu salassato e il suo siero venne inoculato in dosi uguali sottocute a tre conigli.

A questo punto debbo ricordare come una pecora trattata con lo stesso estratto in quantità diversa e saltuariamente, quindi inoculata di carbonchio sopravvisse, e poi salassata fornì un siero che in quantità di 1 cmc. per 100 gr. di animale, salvava i conigli dall'inoculazione di 2 cmc. di brodocultura (di cui 1 cmc. uccideva una cavia del peso di gr. 255 in 36 ore).

Ora nello stesso modo sperimentai il siero del coniglio, venendo ai seguenti risultati:

1° Coniglio peso gr. 980. Si inocula sottocute con cmc. 9, 8 di siero: dopo 3 giorni si inocula di carbonchio; e si seguita a inoculare dopo altri 9 e poi dopo altri 15 giorni. L'animale dimagra notevolmente e progressiva-

mente e muore marantico dopo 6 giorni dall'ultima inoculazione del virus. Si trovano bacilli nella milza e qualcuno nel punto di inoculazione, ma nessuna traccia di edema.

2° Coniglio peso gr. 1120. Si inocula con cmc. 5,10 di siero ossia con la metà della dose per 100 gr. di animale, e dopo 3 giorni si inocula di carbonchio, e poi ancora dopo 7 giorni. Muore, trascorsi 5 giorni dall'ultima inoculazione, senza edema. Si trovano i bacilli nella milza e nel sangue.

3° Coniglio peso gr. 760. Si inocula sottocute con 1 cmc. di siero e dopo 3 giorni di carbonchio. Muore dopo 3 giorni di carbonchio con leggiero edema sottocutaneo. Si trovano i bacilli nella milza e negli organi.

Risulta quindi da questi esperimenti che: *gli estratti del residuo degli organi spremuti a 300 atmosfere, hanno un'azione immunizzante verso le pecore e i conigli; e il siero di questi animali, in date proporzioni, acquista proprietà preventive.*

c) Nelle cavie.

Bisognava ora vedere se l'estratto dagli organi carbonchiosi che ha potere immunizzante verso i conigli, lo avesse anche verso le cavie, che per lunga esperienza si debbono considerare animali molto più recettivi all'infezione carbonchiosa.

Inoculai quindi preventivamente sottocute con l'estratto più volte indicato al cloruro sodico:

2 cavie 1 sola volta con 5 cmc.;

2 id. 2 volte con 5 cmc. con la distanza di 3 giorni tra l'una e l'altra inoculazione;

3 cavie 5 volte con 5 cmc. con la distanza di 3 giorni tra l'una e l'altra inoculazione;

2 cavie 5 volte con 7 cmc. con la distanza di 4 giorni tra l'una e l'altra inoculazione;

2 cavie 5 volte con 7 cmc. con la distanza di 3 giorni tra l'una e l'altra inoculazione;

e poi trascorsi tre giorni dall'ultima iniezione preventiva le inoculai con una dose di carbonchio mortale per le cavie di controllo.

Il risultato ottenuto fu assolutamente negativo: nessun animale si salvò, tutti morirono in due-tre giorni presentando all'autopsia un copiosissimo edema sottocutaneo.

Evidentemente dunque col succo degli organi le cavie non si immunizzano, mentre le pecore ed i conigli sì.

Per darmi ragione di questa diversità di risultati, presi a studiare le proprietà agglutinanti e battericide del siero di cavia e del siero di coniglio, sperando di ricavare da tale studio le ragioni dell'insuccesso e la via da seguire nelle ulteriori ricerche.

Per saggiare le proprietà agglutinanti del siero sul bacillo del carbonchio, cercai anzitutto di ottenere delle colture intorbidate di b. del carbonchio. A tal uopo dibattei dapprima delle patine fresche su agar in acqua distil-

lata in presenza di sabbia e mi servii del liquido torbido dopo una modica centrifugazione (1). Successivamente poi ricorsi a colture in brodo intorbidato per mezzo dello sbattimento, risultato facile a ottenersi e a rendersi ereditario nelle brodocolture figlie, pur rimanendo i germi virulenti, come sarà fra breve reso di pubblica ragione dal dott. Santori, il quale se n'è occupato, e a lungo, in questo istituto.

Servendomi dell'emulsione trovai che il siero di cavia sana in genere agglutina il b. del carbonchio nelle proporzioni di 1 di siero a 60 di brodoculture, nelle 24 h e il siero di coniglio sano agglutina lo stesso bacillo in proporzioni così variabili (1: 25 - 1: 60 - 1: 75) da essere impossibile di stabilire un rapporto fisso.

Servendomi delle brodoculture intorbidate, trovai invece che il siero di cavia sana, non agglutina mai il bacillo del carbonchio, e che il siero di coniglio sano lo agglutina nel rapporto di 1 a 10.

Stabiliti questi dati passai a studiare il potere agglutinante del siero di cavia e del siero di coniglio inoculati coi varii materiali riusciti preventivi per i conigli e non per le cavie. Trovai così che il siero delle cavie inoculate con carbonchio ucciso o molto attenuato, o in preda all'infezione carbonchiosa o inoculate con estratto di organi acquista proprietà agglutinanti nel rapporto di 1 a 40, e tale proporzione si mantiene costante in tutti gli animali senza subire oscillazioni; e, oltre a ciò che il siero di coniglio trattato nello stesso modo, eleva le proprietà agglutinanti mantenendole fisse nel rapporto di 1 a 50-60.

In quanto al potere battericida del siero di cavia e di coniglio rispetto al bacillo del carbonchio, le ricerche fatte da me e da altri in questo istituto, hanno condotto a trovare che il siero di cavia sana non ha alcun potere battericida dimostrabile sul b. del carbonchio (2) mentre il siero di coniglio lo possiede discretamente elevato (3).

Trattando gli animali con gli stessi mezzi che riescono preventivi per i conigli e non per le cavie, si vede elevare di molto il potere battericida del siero di coniglio, sino ad aversi che 1/10 di cmc. di tale siero distrugge in un'ora varie centinaia di germi. Per converso il siero di cavia non acquista proprietà battericide dimostrabili.

Quindi, in conclusione, dallo studio delle proprietà agglutinanti e battericide del siero di cavie e di conigli sani e trattati, risulta che mentre in ambedue gli animali coi mezzi di prevenzione usati si eleva e diviene costante il potere agglutinante, quello battericida si eleva nei conigli; mentre nelle cavie rimane sempre basso o addirittura assente.

È quindi manifesto dopo ciò che *i mezzi sufficienti per immunizzare i conigli non possono esserlo altrettanto per le cavie.*

---

(1) Vedi Memoria III. Questi Annali, vol. X, 1900.
(2) V. Bochicchio — Questi Annali, questo fascicolo.
(3) V. Memoria III. Questi Annali, vol. X, 1900.

1. Estratto con carbonato sodico o con soda.

Invece di servirmi dell'estratto al cloruro di sodio pensai di usare l'estratto al carbonato sodico col quale ottenevo dal residuo maggior rendimento di materiale. Però con mia sorpresa questi estratti posseggono minori proprietà immunizzanti poichè allontanano semplicemente il momento della morte: dippiù essi sono meno facilmente usufruibili per il forte potere locale irritante e per l'azione marantica che posseggono. Di quattro conigli inoculati sottocute con l'estratto al carbonato sodico solo uno infatti resistette ad una prima inoculazione di virus praticato dopo 8 giorni: gli altri morirono tutti pur non presentando l'edema caratteristico.

Ciò vuol dire che il potere immunizzante dell'estratto con la soluzione di cloruro sodico è maggiore di quello dell'estratto con il carbonato sodico.

A scoprire le ragioni di questo diverso comportamento, credetti opportuno di scindere l'azione della proteina carbonchiosa, da quella del succo degli organi, e perciò presi a studiare il potere immunizzante del siero degli organi normali, estratti con acqua salata e con alcali, ricerche queste che vennero poi ampiamente svolte dal Tusini il quale ne fece oggetto di un lavoro speciale (1).

Dal complesso delle ricerche fatte da me e dal Tusini risultò che inoculando gli estratti di milza e di rene, fatti con cloruro di sodio al 0.85 °/₀ nelle vene dei conigli in dose non coagulante, i conigli possono resistere ad una inoculazione di una dose mortale di virus carbonchioso.

Il Tusini poi praticò due serie di esperienze. Nella prima inoculò ripetutamente i conigli giornalmente per la durata di una settimana con 5 cmc. di estratto alcalino dei succhi, nella seconda ripetè lo stesso procedimento inoculando i conigli saltuariamente; in ambedue i casi trovò che gli animali divengono solo più resistenti alle inoculazioni di virus carbonchioso.

Dunque anche l'estratto con la soluzione fisiologica del residuo degli organi di animali sani ha azione preventiva verso l'infezione carbonchiosa e l'estratto alcalino non l'ha che appena dimostrabile.

Però è indubitato che l'estratto degli organi infetti ha un potere immunizzante maggiore, come si può rilevare dalla tabella seguente:

---

(1) *Riforma medica*, 1902.

Estratti di organi di conigli sani				Estratti di organi di conigli infetti			
inoculati nelle vene con 1 cmc. di estratto di soluzione di cloruro sodico							
Peso dell'animale	Inoculazione del virus dopo	Numero delle inoculazioni	Esito	Peso dell'animale	Inoculazione del virus dopo	Numero delle inoculazioni	Esito
1010	3 giorni	1	Muore dopo 6 giorni	1000	3 giorni	1	Sopravvive.
1210	Id.	2	Id. 4 id.	1120	Id	3	Muore dopo 3 giorni.
1120	Id.	2	Id. 3 id.	1060	Id.	3	Id. 5 id.
1040	Id.	2	Id.	1170	Id.	2	Id. 5 id.
1200	Id.	1	Id. 5 id.	1230	Id.	1	Id. 8 id.

Dove si vede che mentre gli animali inoculati coi succhi degli organi di animali sani, non riescono a sopportare più di due inoculazioni di virus carbonchioso, quelli inoculati con succhi di organi infetti ne possono sopportare in alcuni casi tre: dippiù mentre di due animali inoculati coi succhi di organi sani nessuno sopravvisse ad una inoculazione di virus carbonchioso, dei due corrispondenti inoculati coi succhi degli organi infetti uno sopravvisse e l'altro morì con molto ritardo.

Dopo questo risultato, per trovare a che cosa fosse dovuta la maggiore azione dei succhi degli animali infetti, non rimaneva che scindere l'azione dovuta ai nucleoproteïdi degli organi da quelli di nucleoproteidi batterici.

A tal uopo mi servii degli organi di 12 conigli inoculati di carbonchio sottocute, che uccisi per dissanguamento dopo la 65ª ora dall'inoculazione. Li pressai quindi col torchio di Buchner e ripresi il residuo con acqua salata. Quindi sottoposi il miscuglio di nuovo alla pressione di 400 atmosfere e il liquido ottenuto lo centrifugai in presenza di cloroformio e lo filtrai alla carta. Presi il filtrato, lo precipitai con acido acetico, lo raccolsi sul filtro lo trattai con acido cloridrico diluito e di nuovo lo filtrai. Nel liquido che passa attraverso la carta, si ha disciolto un materiale che realmente trattato con ammoniaca in eccesso precipita. Al liquido ammoniacale filtrato a sua volta, aggiungendo acido acetico sino ad acidificazione, si forma un nuovo precipitato, il quale parmi finora si abbia soltanto dagli organi infetti, che io considero contenere nucleoproteide batterico.

Per tentare l'immunizzazione ho tenuto conto dei due precipitati: quello che si ha con l'aggiunta di ammoniaca e quello che si ha aggiungendo acido acetico al liquido ammoniacale filtrato.

I due precipitati, sciolti separatamente nella miscela di cloruro sodico 0,85 °/₀ (p. 4) e carbonato sodico 0,25 °/₀ (p. 1), ho quindi a dosi crescenti inoculato nelle vene dei conigli sino a raggiungere la quantità di 15 cmc. nel termine di 20 giorni. Quindi, aspettando che gli animali tornassero al peso primitivo, li ho inoculati con una dose mortale di carbonchio sottocute. Ebbi questi risultati:

CONIGLI trattati con il precipitato ottenuto con ammoniaca	CONIGLI trattati con il precipitato dal liquido ammoniacale con acido acetico
1. Sopravvive.	1. Muore dopo 3 giorni.
2. Id.	2. Id. 5 id.
3. Id.	3. Id. 9 id.
4. Muore dopo 7 giorni	4. Id. 3 id.
5. Id. 5 id.	5. Id. 7 id.

dove si vede che tanto il precipitato con acido acetico (nucleoproteide del b. del carbonchio?) quanto il precipitato con ammoniaca (nucleistone?) agiscono ugualmente: quest'ultimo in un caso avrebbe reso anche possibile all'animale di sopportare una dose mortale di virus carbonchioso.

Cosicchè, concludendo, dopo queste ricerche, mi convinsi che *l'estratto del residuo degli organi mediante la soluzione fisiologica di cloruro sodico, ha azione immunizzante maggiore quando proviene da organi infetti, e ciò, date le attuali conoscenze intorno ai nucleoproteidi degli organi, parrebbe doversi al nucleoistone da un lato e dall'altro al nucleoproteide carbonchioso.* Presi isolatamente, questi due materiali hanno debole azione preventiva; presi insieme, le due azioni si sommano.

CAPITOLO IV.

Immunizzazione con gli estratti leucocitici.

Dai risultati delle ricerche, esposte nel capitolo precedente, era naturale si dovesse dedurre che per ottenere un'attiva immunità verso il carbonchio anche negli animali più ricettivi, fosse necessario destare proprietà battericide nei loro sieri.

Riferendomi allora ai moderni concetti che guidano gli studiosi nell'interpretazione del meccanismo dell'immunità naturale ed arti-

ficiale, ho pensato di poter elevare il potere battericida del siero degli animali mediante la inoculazione degli organi più ricchi di leucociti, e ho scelto la milza, nella quale si trovano maggior numero di polinucleati e quindi di produttori di citasi, tanto più che in questi ultimi tempi, alla milza si viene attribuendo la precipua funzione di possedere le sostanze zimotossiche, le quali esplicano la loro azione citolitica sugli elementi sensibilizzati in circolo.

Feci dunque estratti di milza carbonchiosa e sana in soluzione fisiologica di cloruro sodico, e il liquido ben dibattuto con cloroformio e centrifugato lo inoculai nel peritoneo di cavie e di conigli, saggiando quindi nelle une e negli altri dopo tre giorni il potere battericida e agglutinante del siero.

Ho così trovato che:

1° il potere agglutinante del siero degli animali inoculati con estratto di milza sana, si eleva per il siero di cavia e rimane costante nel rapporto di 1 a 20 e per quello di coniglio nel rapporto di 1 a 30, e il potere battericida si eleva nel siero del coniglio sano, sino ad aversi che 1/10 di cmc. di siero uccide da due a tre centinaia germi in un'ora, mentre quello di cavia rimane scevro di ogni potere battericida;

2° il potere agglutinante del siero degli animali, inoculati con estratto di milza carbonchiosa, si eleva per il siero di cavia a 1:30, 1:40, e per quello di coniglio a 1:50 ed il potere battericida per il siero di coniglio si eleva a proporzioni ancora più elevate (poichè 1/10 di cmc. di siero uccide circa 500 germi) e per quello di cavia diventa dimostrabile una diminuzione di 30-50 germi nella emulsione dei bacilli trattata con il siero (1/10 di cmc. di siero di cavia e 1 cmc. di emulsione contenente 240 germi) (1).

In vista di questi risultati pensai di inoculare addirittura alle cavie gli estratti di leucociti polinucleati, indipendentemente da qualsiasi organo. Ho allora trattato cavie sane coi leucociti:

di cavie e di conigli sani;
di conigli immunizzati;
di cani infettati di carbonchio e sopravvissuti.

E poi ho studiate le proprietà agglutinanti e battericide dei sieri degli animali sottoposti a questi trattamenti.

Per ottenere i leucociti, inoculai nel peritoneo degli animali sani (cavie, conigli, cani) determinate quantità di legumina, estratta dall'aleuronato del

(1) Una volta per sempre dirò che quando dico che una data quantità di siero ha ucciso un dato numero di germi, non intendo con questo stabilire delle cifre che abbiano un valore assoluto, poichè le cause di errore sono moltissime in questo genere di ricerche. Trattasi di dati di un valore relativo quindi, i quali soltanto messi in paragone tra di loro, portano a conclusioni di un qualche significato.

commercio (1) e sciolta in acqua leggermente alcalina e dopo 8-10 ore dissanguai l'animale e ne ricavai il liquido dal peritoneo.

Da questo liquido centrifugato, ho raccolto il deposito costituito da leucociti, che ho posto dapprima in cloruro sodico al 0.85 % e poi successivamente nello stesso siero dell'animale. L'emulsione di leucociti in cloruro sodico o in siero ho quindi posto alternativamente in ghiaccio e in termostato sino ad ottenere la dissoluzione dei leucociti, e di questo liquido mi sono servito per l'inoculazione.

Inoculazione di estratto leucocitico di cavie in cavie.

Il Bochicchio (2) ha praticato inoculazione di estratto leucocitico di cavie sane, in altre cavie del pari sane. per la via sottocutanea e poichè le ricerche dell'A. sono complete, rimando per le particolarità al lavoro dell'autore. Si trova così che *nelle cavie inoculate il siero acquista proprietà agglutinanti ma non potere battericida.*

Inoculazione di estratto leucocitico di conigli in cavie.

Ho praticato analoghe inoculazioni con estratto leucocitico di coniglio in cavie sane venendo ad identici risultati: cioè, aumentano le proprietà agglutinanti ma *non le battericide nel siero di cavie.*

Inoculazione di estratto leucocitico di conigli immunizzati in cavie.

Scelsi i conigli sopravvissuti all' inoculazione del virus carbonchioso dopo trattamento preventivo col succo degli organi, li inoculai nel peritoneo con la soluzione di legumina e ricavati i leucociti col metodo già detto ed ottenuto l'estratto leucocitico nel siero degli stessi animali, inoculai questo liquido in cavie sane. Dopo 48 ore salassai le cavie e studiai le proprietà battericide ed agglutinanti del loro siero. Trovai così che il potere agglutinante si eleva sino a raggiungere il rapporto di 1 a 50 — 1 a 80 e che il potere battericida anch'esso si eleva sino ad aversi che 1/10 di cmc. di

---

(1) Il Rem-Picci ebbe a notare che l'aleuronato del commercio è sempre impuro e che il metodo indicato dal Colard per ottenere da esso un materiale flogogeno è quello che serve per ottenere la legumina. Io mi sono servito dello stesso procedimento del Rem-Picci che è stato usato anche per altro lavoro dal Masi (V. questi Annali e questo fascicolo), però ho sostituito a tutti i procedimenti di filtrazione, la centrifugazione. Così in breve tempo si ottiene la soluzione di legumina (che è sempre meglio rimanga un po' torbida), la quale poi si sterilizza nella pentola di Koch senza che subisca alcuna alterazione riguardo alla sua azione flogogena.

(2) Loc. cit.

siero di cavia uccide da 120 a 170 germi dopo 1 ora di azione sopra una emulsione contenente 790 germi.

Avuto questo risultato preparai altre due cavie con le inoculazioni del liquido leucocitico in siero di coniglio (10 cmc. di siero contenenti tutti i leucociti ricavati dal liquido endoperitoneale del coniglio) e quando gli animali si furono rimessi in peso (dopo due giorni) li inoculai l'uno con un po' di sangue di cavia carbonchiosa contenente i bacilli del carbonchio (700 germi circa) non sporificati: l'altra con 1/10 di mc. di emulsione in acqua distillata di bacilli del carbonchio contenente circa 550 germi di cui molti sporificati.

Il risultato fu abbastanza soddisfacente in quanto che la prima cavia sopravvisse e la seconda no.

Ripetuta la prova sopra altre due cavie inoculandole con carbonchio non sporificato, ebbi identici risultati. Ciò vuol dire che *le cavie inoculate con l'estratto leucocitico di conigli immunizzati riescono a salvarsi da una inoculazione di virus carbonchioso non sporificato, ma soggiaciono a quella di carbonchio sporificato pur contenendo questo un minor numero di germi.*

Pensai allora di trattare delle cavie ripetutamente con l'estratto siero-leucocitico di conigli immunizzati; ma dovetti presto abbandonare queste ricerche perchè il materiale che si inocula è dotato di azione locale irritante, ed è anche alquanto marantico.

Ad ovviare a questo inconveniente lo sottoposi alla filtrazione alla porcellana porosa. Ottenni così un liquido citrino che inoculato è privo di azione locale ed è ancora dotato di un discreto potere preventivo. Infatti di 3 cavie inoculate con 10 cmc. ciascuna del filtrato (ogni 10 cmc. contenevano prima della filtrazione tutti i leucociti estratti dal cavo peritoneale di un coniglio) una sopportò benissimo l'inoculazione di sangue carbonchioso contenente circa 550 germi, e le altre due morirono tardivamente non presentando affatto edema locale.

Ciò vuol dire che *il materiale immunizzante passa in buona parte anche attraverso il filtro di porcellana* e quindi l'estratto leucocitico privo di azione locale e generale, può adoperarsi dopo essere stato filtrato.

Inoculazione in cavie di estratto leucocitico di cani inoculati di carbonchio.

Dopo ciò non rimaneva che studiare come si diportassero gli estratti siero-leucocitici provenienti da animali refrattari, i quali avessero sopportato l'inoculazione di b. carbonchiosi sporigeni. A

tal uopo inoculai sottocute due cani con quattro patine su agar di 8 giorni, e dopo 6 giorni inoculai nel peritoneo la soluzione di legumina.

Salassati i cani dopo 8 ore ed estratti i leucociti dal peritoneo e ottenuto il liquido siero-leucocitico nel modo più volte indicato, inoculai a cavie questo liquido filtrato alla porcellana.

Ho così trovato che gli animali sopportavano benissimo 5 cmc. del liquido filtrato diminuendo di pochi grammi di peso; però non si adattarono, riinoculati, a sopportare in una sola volta dosi di liquido maggiori anche dopo trattamento di un mese, essendo per gli animali questo materiale discretamente tossico.

Ad ogni modo dopo la inoculazione di 5 cmc., le cavie diventano molto resistenti al virus carbonchioso.

Difatti tre cavie inoculate dopo sette giorni con sangue carbonchioso contenente circa 940 germi sopravvissero e riinoculate dopo altri 7 giorni, sopravvissero ad una seconda inoculazione di circa 1500 germi.

Due cavie inoculate con materiale sporigeno contenenti circa 500 germi, morirono l'una dopo 9 giorni, l'altra dopo 11 senza presentare traccia di edema sottocutaneo.

Ciò vuol dire che con questo trattamento *gli animali divengono molto più resistenti all'infezione carbonchiosa che con tutti gli altri trattamenti precedenti ma però non sopportano ancora bene l'inoculazione del virus sporificato.*

Inoculazione di estratto leucocitico di animali refrattari col quale è stato trattato il bacillo del carbonchio.

Ad aumentare il potere preventivo del materiale, non rimaneva più che trattare con esso i batteri carbonchiosi in vitro, ed inocularlo dopo tale trattamento e dopo filtratolo alla porcellana. Tenendo presenti i dati relativi al meccanismo dell'immunità, in questo materiale si sarebbero dovuti trovare eminenti proprietà preventive poichè doveva contenere gli anticorpi specifici prodottisi nel siero di cane in seguito all'inoculazione del carbonchio, le citasi batteriolitiche, derivanti dai leucociti disgregati, il nucleoistone liberatosi da leucociti stessi, e l'estratto dei germi batteriolizzati.

E in realtà questo materiale ha agito molto bene quale preventivo anche nelle cavie, come risulta dalla tabella seguente in cui riporto tre esperimenti completi.

ANIMALE	Peso in grammi	Quantità di liquido inoculato	Inoculazioni di carbonchio praticate ogni 8 giorni sottocute						Azione del siero degli animali salassati dopo 7 giorni	
				Numero dei germi sporigeni inoculati		Numero dei germi sporigeni inoculati		Numero dei germi sporigeni inoculati	battorica	agglutinante
Coniglio	1100	5 cmc. nelle vene. . .	1ª	790	2ª	1900	3ª	1750	1750	1 : 60
Id.	2150	5 cmc. sottocute. . . .	1ª	910	2ª	1900	3ª	1750	1695	1 : 60
Id.	2040	Id.	1ª	1150	2ª	1100	3ª	1750	2598	1 : 60
Cavia	320	Id.	1ª	790	2ª	890	. .	. .	1300	1 : 80
Id.	280	Id.	1ª	910	2ª	890	. .	. .	1225	1 : 80
Id.	300	Id.	1ª	1150	2ª	890	. .	. .	1300	1 : 80

Naturalmente non mi sono limitato a questi esperimenti. Ho trattate nella stessa maniera altre 15 cavie delle quali dopo avere inoculato 1/10 di cmc. di una emulsione in acqua distillata di una intera patina di cultura in agar di 4 giorni ho studiato la durata dell'immunità acquisita.

Le inoculazioni vennero fatte il 4 giugno. Il 28 giugno ne sopravvivevano 12; ne erano quindi morte 3 per cause non ben definite; certamente non d'infezione carbonchiosa.

Di queste dodici il 16 agosto ne sopravvivevan 6; le altre erano morte a varii intervalli anche esse per cause non precisabili; ma certamente non per infezione carbonchiosa.

Queste 6 cavie vennero ancora una volta inoculate di carbonchio sporigeno sottocute.

Il 1° settembre mentre correggevo le bozze del presente lavoro erano ancora vive.

È evidente dunque che il *siero-leucocitico proveniente da animali refrattari che abbiano resistito all'inoculazione di virus carbonchio sporigeno, salva gli animali più recettivi dalla inoculazione di virus anche sporigeno* (1).

E questo risultato parvemi di tale importanza, che ho pensato di applicare il procedimento per ottenere l'immunità anche verso

(1) Invece di servirmi dell'estratto leucocitico ottenuto nel modo indicato ho anche pensato di usare il liquido che si ottiene coll'inoculazione endoperitoneale di carbonchio, centrifugandolo dopo gelato e disgelato in presenza di cloroformio. Questo materiale non fa che allontanare il momento della morte nelle cavie, le quali poi muoiono lo stesso con edema copiosissimo nel sottocutaneo, e salva qualche coniglio, a patto che l'inoculazione si faccia nelle vene.

Se poi si volesse fare di questo liquido un vaccino come si è tentato di fare per la peste, si hanno risultati assolutamente negativi. Infatti dopo gelato e disgelato, riscaldandolo a 55°, si tolgono al materiale parte delle sue proprietà preventive e non rimangono che i batteri con le loro proteine, i quali possono inoculati eccitare la produzione di sostanze antagoniste, cosa che si può benissimo ottenere con colture di carbonchio attenuate col calore senza ricorrere all'essudato. Ho anche voluto vedere se si trovasse in tale materiale dell'istone, ma il rendimento è addirittura minimo, e in ogni caso inoculando quel che si può ottenere da una cavia, in cavie sane e poi iniettando in queste il carbonchio non si riesce ad allontanare neppure il momento della morte. Ricerche analoghe fatte dal Masi in rapporto al colera hanno condotto a risultati identici.

altre infezioni, quali la diplococcica. Lo scopo del lavoro che mi propongo di fare sarà quello di studiare se *il siero di animali sopravvissuti all'inoculazione del virus, a cui sono refrattari, arricchito dei prodotti di disgregazione dei leucociti degli stessi animali, dopo aver agito in vitro sui batteri stessi, si trasformi in un liquido che filtrato alla candela porosa, vaccini altri animali verso infezioni, cui sono recettivi, e determini da parte di questi ultimi la produzione di sieri preventivi e curativi* (1).

CAPITOLO V.

Rapporti tra il meccanismo della patogenesi e quello dell'immunità carbonchiosa.

Dopo le ricerche fatte intorno alle sostanze coagulanti e necrotiche ed emolitiche nell'infezione carbonchiosa e quelle sui mezzi di immunizzare gli animali, è lecito spiegarci il meccanismo della patogenesi della infezione carbonchiosa e metterlo in rapporto con quello dell'immunità da noi conseguita.

Evidentemente il b. del carbonchio non agisce per veleni primari solubili del tipo delle tossine; nè per veleni secondari derivanti dalla decomposizione dei prodotti colturali. Esso però è provvisto di una proteina dotata di forte potere necrotico e di azione coagulante diretta sul sangue. Nè si può disconoscere che negli organi degli animali infetti in maggior quantità che negli organi sani si trovi dell'istone, il quale, è dotato di azione tossica indubbia; e neppure si può negare che nell'infezione carbonchiosa si producano sostanze emolitiche.

Difatti stando a quanto si rivela coll'esame anatomopatologico degli organi degli animali infetti, si trovano in essi gli effetti della triplice azione di tali materiali.

Considerando, per esempio, la milza, i gangli, il midollo osseo, si trova evidente l'azione del nucleoproteide del carbonchio. Ecco che cosa succede nella milza secondo il Martinotti e Barbacci (2).

---

(1) Faccio notare che il Masi ha ottenuto ottimi risultati nell'immunizzare cavie verso il colera e la peste, semplicemente mediante l'estratto leucocitico di cavie sane, che ha agito sui bacilli colerigeni e pestosi in vitro ed ha ottenuto un siero curativo e preventivo contro il colera per gli stessi animali. Cfr. *questi annali questo fascicolo.*

(2) U. d. Physiopathologie des Milzbrandes. Fortschr. d. Medicin, Bd. X, 1891.

Dicono gli AA. quando i primi batteri cominciano ad entrare in circolo, la polpa della milza sembra aver perduto il suo aspetto omogeneo e la sua trasparenza normale e presenta un quadro che ha molti punti di contatto con l'edema della polpa della milza quando si ha lieve stasi venosa. Successivamente col giungervi dei germi, questi si trovano in un tessuto già fortemente alterato in mezzo a granuli di pigmento, a cellule che contengono dei corpuscoli sanguigni, ecc. In seguito essa si infiltra di sangue in tal modo che le sue maglie compaiono come staccate e ripiene di corpuscoli rossi. I bacilli aumentano rapidamente e le masse di pigmento diventano più grandi e più numercse. Le cellule della polpa vanno mostrando i segni di una metamorfosi regressiva e finiscono col presentare i segni della *necrosi da coagulazione*. Poi anche le grandi cellule che sembravano dapprincipio aumentare e persino gli elementi cellulari del sangue nelle maglie della polpa prendono parte a questi processi degenerativi, sicchè la polpa infine si presenta come una sola massa, formata dalle cellule necrotiche della polpa che sono circondate di sangue coagulato, assai mutato e contenente una quantità enorme di bacilli. In una parola dicono gli autori abbiamo dinanzi a noi una *necrosi della polpa della milza.*

E così studiando le alterazioni che si verificano nei gangli prossimiori al punto di inoculazione, gli AA. hanno veduto che in esse si accumulano in numero grandissimo i bacilli, e tale accumulo è accompagnato da emorragie, stasi, trombosi dei vasi ed estesa necrosi del tessuto di sostegno: i nuclei germinativi che vengono in seguito colpiti presentano il protoplasma necrotizzato, la cromatina decomposta. E in questi gangli secondo gli AA. si può proprio assistere all'azione diretta dei bacilli sulle cellule perchè il vaso perde la sua parete nell'interno del ganglio.

Del resto, aggiungono, è indubitato che negli ultimi stadi della malattia si hanno poi alterazioni vasali che permettono ai germi di venire in diretto contatto con gli elementi dei tessuti.

D'altro canto studiando i caratteri di coagulabilità del sangue, lo stato del sangue nei capillari, appare evidente l'azione del nucleoistone: abbiamo cioè da un lato i coaguli nei capillari, dall'altro la incoagulabilità della massa sanguigna o almeno il diminuito potere della stessa, fatti che si sanno essere gli esiti della liberazione del nucleoistone in circolo come ha tanto bene dimostrato il Carbone nell'infezione diplococcica.

Finalmente studiando il modo di comportarsi degli eritrociti, nel sangue circolante e nella milza, si trovano gli esiti dell'azione emolitica, esiti che sono noti ai patologi da molto tempo. Gli stessi Martinotti e Barbacci a proposito delle modificazioni del sangue nell'infezione carbonchiosa, dicono infatti: questi fenomeni sono per una parte da attribuire alla distruzione dei corpuscoli sanguigni rossi... e all'aumento dei corpuscoli rossi incolori... e a proposito di ciò che succede nella milza, che tra le cellule dell'organo si scorgono dei granuli estremamente fini di color giallastro e di forma irregolare, quasi angolosi che presentano tutti i caratteri del pigmento che deriva dalla emoglobina, ecc. ecc., tutti fatti che debbono interpretarsi, a mio vedere, come i postumi dell'emolisi.

Epperò, ancora una volta, debbo ritenere esatta l'interpretazione da me data al meccanismo della patogenesi dell'infezione carbon-

chiosa sino dai primi studi fatti sul carbonchio ematico, che cioè parte precipua spetti alla produzione di una sostanza coagulante nell'organismo stesso infetto. Soltanto ora posso aggiungere che tale sostanza la quale si trova nel succo degli organi e che sarebbe rappresentata dal nucleoistone, non è la sola, poichè bisogna ammettere l'intervento anche della proteina carbonchiosa, alla quale per converso dalle ricerche in primo tempo fatte non parevami dovesse darsi tanta importanza. Dippiù giova eziandio considerare la produzione di sostanze emolitiche sia da parte del germe, sia, e più specialmente, da parte dell'organismo, le quali contribuiscono ad alterare il sangue e formano quindi veleni secondari non trascurabili.

***

Vediamo ora se questo modo di interpretare il meccanismo della patogenesi dell'infezione carbonchiosa, possa mettersi in rapporto col meccanismo dell'immunità.

Abbiamo veduto che per ottenere l'immunità nei conigli hanno un certo valore le sostanze derivate dalle vecchie colture in gelatina, i filtrati di coltura in albuminato e in plasma, i succhi degli organi sani contenenti del nucleoistone; però l'azione più spiccata è spiegata dagli estratti dei succhi degli organi contenenti e il nucleoistone e la proteina carbonchiosa.

E invero, dato il meccanismo patogenetico sopra ricordato, ciò è ovvio. Si comprende cioè facilmente come questi materiali contenendo i due materiali tossici principali che si producono nell'infezione carbonchiosa, debbano, inoculati negli animali, determinare la produzione di sostanze antagoniste, antiproteiniche e anti-istoniche, per cui gli animali stessi presentano notevole resistenza all'infezione carbonchiosa. Si aggiunga che nei detti materiali contenendosi anche l'emolisina si desteranno analogamente proprietà antiemolisiniche nei sieri degli animali trattati.

Però non è certamente questo il materiale che può immunizzare solidamente tutti gli animali, perchè in esso non si contengono sostanze battericide tali che possano agire anche sul germe invasore impedendone la moltiplicazione; epperò è naturale che esso non possa servire per immunizzare gli animali recettivi in alto grado.

Quindi per ottenere l'immunità anche in questi si comprende come sia necessario non solo inocularli con materiale contenente molto nucleoistone e proteina carbonchiosa, ma anche sostanze battericide e specificamente battericide. E per questo che bisogna ri-

correre agli animali immunizzati o meglio ancora agli animali refrattari, dai cui organi o meglio dai leucociti si possono estrarre l'istone e le citasi, materiali che sciolti nel siero specificamente battericida, insieme alla proteina carbonchiosa, lo rondono fortemente e solidamente vaccinante.

Dopo di che è evidente ancora una volta che con le sole colture virulente e tanto peggio poi con le attennate desteremo bensì negli animali proprietà battericide più o meno notevoli, ma non otterremo mai la produzione di antitossici secondari in tale copia da avere dei sieri fortemente immunizzanti anche negli animali più squisitamente recettivi al carbonchio.

Conclusioni.

Riassumendo le ricerche esposte nella presente memoria, se ne possono trarre le seguenti conclusioni:

1. I filtrati delle colture del B. del carbonchio nel brodo di Löffler sono assolutamente prive di azione immunizzante verso i conigli e le cavie; e nello stesso modo si diportano quelli delle colture nei prodotti di demolizione dell'albumina, in albumosa di Heiden, ecc.: posseggono invece azione immunizzante verso i conigli, ma non verso le cavie, i filtrati delle colture in albuminato alcalino e in plasma-ossalato di coniglio.

2. La proteina carbonchiosa estratta col metodo di Koch e di Behring non ha potere immunizzante: lo stesso si dica dell'estratto con pepsina idroclorica e dell'estratto plasmolitico: l'estratto caseinico ed alaninico col quale si ottengono le nucleasi del B. del carbonchio hanno un certo potere immunizzante verso i conigli ma non verso le cavie e l'estratto nucleo-proteidico allontana costantemente il momento della morte.

3. Gli estratti degli organi degli animali carbonchiosi, semplici o precipitati, per la loro azione irritante locale e marantica, non si prestano ad immunizzare nè i conigli nè le cavie; e se filtrati allo Chamberland sono privi di qualsiasi azione immunizzante.

4. Gli estratti in soluzione fisiologica di cloruro sodico degli organi degli animali infetti, prima spremuti a 300-400 atmosfere, immunizzano abbastanza durevolmente le pecore ed i conigli ma non le cavie e tale azione diminuisce notevolmente nell'estratto alcalino.

5. L'azione immunizzante dell'estratto in soluzione fisiologica

degli organi prima spremuti a 400 atmosfere si deve in parte al nucleo-istone che si trova anche, ma in minore quantità, negli organi sani e in parte al nucleo-proteide del bacillo del carbonchio, ed è per questo che tali estratti hanno azione immunizzante maggiore dell'estratto dei corrispondenti organi sani e dell'estratto alcalino degli organi in genere.

6. Gli estratti in soluzione fisiologica del succo degli organi infetti non elevano le proprietà battericide dei sieri degli animali molto recettivi e gli animali non si immunizzano: se si inoculano però precedentemente con estratti di leucociti disgregati, le proprietà battericide aumentano e si riesce ad allontanare in essi il momento della morte per carbonchio.

7. Si possono salvare le cavie dal carbonchio non sporigeno inoculandole preventivamente con l'estratto leucocitico nei sieri degli animali immunizzati (conigli) o meglio ancora con lo stesso estratto nei sieri degli animali refrattari precedentemente inoculati di carbonchio (cani).

8. Si possono salvare le cavie dal carbonchio sporigeno inoculandole coll'estratto leucocitico nel siero proveniente da animali refrattari iniettati di carbonchio, nel quale siero si trovino anche estratti del corpo batterico: tale materiale vaccinante perde la sua azione locale se filtrato alla candela porosa e conserva proprietà preventive.

9. I risultati degli esperimenti fatti per immunizzare animali molto recettivi come le cavie dimostrano che il metodo per ottenere una solida immunizzazione negli animali verso l'infezione carbonchiosa consiste nel produrre nell'organismo da immunizzarsi le sostanze antagoniste rispetto ai tossici primari e secondari (proteine ed istone) e dall'altro nell'accrescere le proprietà battericide dei sieri stessi.

10. Rimane ora a provare se il procedimento col quale si ottiene una solida immunità verso la setticemia carbonchiosa strettamente legato ai singoli momenti patogenetici dell'infezione possa estendersi anche ad altre infezioni setticemiche che hanno momenti patogenetici analoghi, e se possa essere il mezzo razionale per ottenere almeno dei vaccini che salvino gli animali dalle infezioni stesse.

Istituto d'Igiene della R. Università di Roma

Sul modo di conferire al siero di sangue di cavia potere agglutinante e battericida sul B. del carbonchio.

Ricerche del dott. A. **BOCHICCHIO.**

Si sa che fattori importantissimi dell'immunità naturale ed artificiale sono le alessine, la cui origine principale si fa risiedere nei leucociti.

Partendo da questo concetto ho voluto sperimentalmente vedere se, inoculando in un animale sensibile a una data infezione i prodotti leucocitici di un animale della stessa specie, fosse frattanto possibile conferire al siero di sangue dell'animale trattato, proprietà battericide e agglutinanti, normalmente non possedute.

L'animale da esperimento da me preferito fu la cavia, il microrganismo scelto il carbonchio al quale la cavia è suscettibilissima. Ho anche preferito questo animale e questo germe perchè il siero di sangue delle cavie normalmente non possiede potere battericida nè agglutinante sul germe in discorso, del qual fatto ho potuto accertarmene, mediante esperimenti adatti.

A tal uopo ho salassato delle cavie sane, raccolto il sangue arterioso e separatone il siero per coagulazione, ho saggiato il potere *agglutinante* e *battericida* nel modo che verrò esponendo.

Naturalmente trattandosi di un microrganismo sfornito in modo assoluto di mobilità e riunentesi naturalmente in ammassi filamentosi alla superficie e al fondo delle culture in brodo, sorgeva naturale la difficoltà di potere in modo evidente, macroscopicamente constatare l'azione agglutinante o meno del siero. A tale difficoltà però fu ovviato preparando delle culture in brodo di carbonchio, ottenute torbide collo sbattimento ripetuto, nel modo praticato in questo istituto e che verrà indicato dal Santori.

Messo rispettivamente 10, 20, 40, 60, 80 goccie di culture così preparate in altrettanti tubicini del diametro di mm. 6, ho a ciascuno di esso aggiunto una goccia di siero, ottenuto dalla cavia nel modo detto, ed ho portato il tutto nel termostato a 37° osservando di ora in ora i possibili mutamenti nella cultura. I risultati ottenuti riassumo nella tabella seguente:

Quantità di siero.	1	1	1	1	1
Quantità di cultura.	10	20	40	60	80
Agglutinamento	—	—	—	—	—

Dalla quale appare evidente come *il siero di cavia normalmente non possiede proprietà agglutinanti sul bacillo del carbonchio.*

Per lo studio delle proprietà battericide del siero di sangue delle cavie, emulsionai con soluzione fisiologica di cloruro di sodio (0.85 per cento) sterilizzata, una patina di carbonchio virulento, prelevata da cultura su agar, innestata 24 ore prima. A mezzo di una pipetta graduata a ventesimi di cmc., versai in tre tubi sterilizzati della emulsione carbonchiosa cc. 0.10 per ciascuno, addizionandovi rispettivamente cc. 0.10, 0.50, 1 del siero di sangue della cavia.

Agevolavo quindi il contatto tra siero e bacillo con qualche scossa data ai tubi.

Del materiale di ciascun tubo, dopo un'ora, prelevavo cc. 0.10 che seminavo in agar in altrettante capsule di Petri. Contemporaneamente facevo in una quarta capsula la semina di cc. 0.10 della sola emulsione dei bacilli per controllo.

Ho preferito l'agar alla gelatina perchè, non essendo quella fluidificata dal carbonchio, ed essendo possibile tenerla a 37° era più facile numerare con esattezza le colonie sviluppate dopo breve tempo.

Tale numerazione veniva fatta dopo aver tenuto le capsule 48 ore nel termostato a 37°.

I risultati ottenuti furono i seguenti:

MATERIALE SEMINATO	COLONIE SVILUPPATE		
Cmc. 0. 10 di emulsione carbonchiosa	19,898	20,347	21,051
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 0. 10 di siero.	9,958	10,321	11,234
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 0. 50 di siero.	2,032	2,410	2,640
Cmc. 0 10 di emulsione + cmc. 1 di siero . .	1,123	1,358	1,570

Dalla precedente tabella risulta che il numero delle colonie sviluppate in ciascuna capsula è inversamente proporzionale alla quantità di siero aggiunto; ciò potrebbe a prima vista far credere che il siero abbia spiegato sulla cultura una certa azione battericida in ragione della sua quantità, ma così non è realmente.

Infatti la medesima quantità di emulsione è stata diluita con varie quantità di siero, e noi col prelevare 0. 10 cc. per parte per fare la semina, abbiamo preso da ciascun tubo una quantità della emulsione carbonchiosa uguale ad $^{1}/_{2}$, $^{1}/_{10}$, $^{1}/_{20}$ di 0. 10 cc.

Sicchè facendo un confronto tra i numeri delle colonie sviluppate nelle varie capsule vedremo che il rapporto tra loro sta all'incirca come 1: $^{1}/_{2}$; $^{1}/_{10}$: $^{1}/_{20}$.

Quindi possiamo ritenere che lo sviluppo sia eguale in tutte le capsule e il siero non abbia spiegata alcuna azione battericida.

Riflettendo però che noi ci troviamo in presenza di un microrganismo sporigeno e sapendo che le forme durature sono di gran lunga più resistenti agli agenti fisici e chimici, che non le forme vegetative, ci è venuto naturale il dubbio che l'azione del siero non si esplicasse in modo differente sulle une e sulle altre.

Per questa ragione ho ripetuto l'esperimento precedente in rapporto al potere battericida, facendo esplicare l'azione del siero sui bacilli del carbonchio non sporificati. A tal uopo, in cambio della emulsione della precedente esperienza, ho adoperato il sangue carbonchioso, prelevato al momento dell'esperimento dal cuore di una cavia morta per tale infezione, e diluito in una soluzione fisiologica sterilizzata di cloruro di sodio. Di questo liquido, come nell'altra

esperienza, ho usato nell'identico modo le stesse proporzioni rispetto al siero.

I risultati avuti sono espressi nella tabella sottoposta:

MATERIALE SEMINATO	COLONIE SVILUPPATE		
Cmc. 0.10 di sangue carbonchioso diluito . . .	16,069	14,948	15,321
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso + cmc. 0. 10 di siero	9,310	8,745	7,489
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso + cmc. 0. 50 di siero.	2,345	1,824	2,895
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso + cmc. 1 di siero.	749	857	675

Facendo qui le medesime osservazioni circa il numero delle colonie, manifestamente appare che il *siero di cavia normalmente non possiede potere battericida, sia che agisca su bacilli sporificati, sia che agisca su bacilli non sporificati.*

***

Stabilito con sicurezza questo fatto che risultò identico in altri due esperimenti simili, fatti con sieri di cavia di diversa età, ho proceduto ai seguenti esperimenti:

1. Ho inoculato nel peritoneo di tre cavie 10 cc. di *aleuronato di soda per ciascuna*, raccogliendo a mezzo di una soluzione fisiologica di cloruro di sodio l'essudato così provocato, dopo 6 ore in una delle tre cavie, dopo 8 in un'altra e dopo 10 nella terza. Il liquido in tal modo ottenuto sottoposi a ripetuto gelo e disgelo, affine di provocare il disfacimento dei numerosi leucociti in esso contenuti.

Dopo ripetuta questa operazione per 4 volte di seguito, inoculavo con l'intervallo di due a tre ore, in tre volte, tutto il liquido nel peritoneo di una cavia del peso di grm. 315.

Dodici ore dopo l'ultima inoculazione raccoglievo asetticamente il sangue da una delle carotidi, e dopo separato il coagulo dal siero

ne saggiavo il suo potere agglutinante e battericida nel modo descritto avanti.

I risultati ottenuti circa il potere agglutinante sono i seguenti:

Quantità di siero	1	1	1	1	1
Quantità di cultura	10	20	40	60	80
Agglutinamento	+	+	+	+	+

L'agglutinamento nelle proporzioni di 1 di siero e 10 di cultura era evidente già dopo pochi minuti e nel tubo in cui erano messi nelle proporzioni di 1 a 80, il siero e la cultura, già era completo dopo poche ore. L'esame microscopico dei bacilli, precipitati ad ammassi nel fondo dei tubicini, li dimostrava rigonfiati e riuniti in piccoli grumi.

Per vedere se il siero della cavia trattata avesse acquistato pure potere battericida fu fatto agire anche sulla emulsione di bacilli sporificata e su una di bacilli in sangue carbonchioso, recentemente raccolto.

Dopo aver fatto sviluppare le colonie, seminate in capsule di Petri, e tenutele nel termostato a 37° per lo spazio di 48 ore circa ho proceduto alla loro numerazione.

I risultati ottenuti sono esposti nelle due tabelle seguenti:

MATERIALE SEMINATO	COLONIE SVILUPPATE		
Cmc. 0. 10 di emulsione di cultura sporificata. .	24,035	23,450	24,730
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 0. 10 di siero.	15,320	14,140	12,320
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 0. 50 di siero.	4,320	3,115	5,340
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 1 di siero . .	1,380	2,050	1,130

MATERIALE SEMINATO	COLONIE SVILUPPATE		
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso diluito . . .	12,320	11,405	11,200
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchiòso + cmc. 0. 10 di siero	6,340	5,460	7,118
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso + cmc. 0. 50 di siero	841	934	10,140
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso + cmc. 1 di siero.	389	340	480

Nello stesso modo che nell'esperimento precedente. mettendo in rapporto il numero delle colonie sviluppate in ciascuna capsula e la quantità di cultura prelevata per ognuna di esse con la quantità di 0. 10 cc. della miscela di siero e bacilli, risulta evidente che *il siero di sangue della cavia, cui furono inoculati i prodotti di disfacimento dei leucociti, non acquista proprietà battericide, neanche pei bacilli non sporificati.*

Per raccogliere i succhi leucocitici ho usato anche un altro metodo.

Ho inoculato sottocute a tre cavie una certa quantità di olio essenziale di trementina (0. 25 cmc.). Dopo poche ore dalla inoculazione la trementina provoca nel tessuto sottocutaneo della cavia un essudato edematoso dall'aspetto gelatinoso, non contenente leucociti conservati nella loro integrità istologica che solo al primo momento della inoculazione. Raccolto a mezzo di soluzione fisiologica di cloruro di sodio questo essudato nelle tre cavie, rispettivamente dopo 12, 24, 36 ore dalla inoculazione, lo iniettai, senz'altro trattamento, nel peritoneo di una cavia sana in varie volte.

Dopo alcune ore, dissanguai nel modo solito la cavia e provai il potere agglutinante e battericida del siero separato.

Senza ripere qui i particolari della tecnica, identica a quella usata negli esperimenti precedentemente descritti. i risultati ottenut circa il potere agglutinante sono i seguenti:

Quantità di siero.	1	1	1	1	1
Quantità di cultura.	10	20	40	60	80
Agglutinamento	+	+	+	+	+

Anche qui l'agglutinamento si manifestava ben presto, ed era completo dopo qualche ora anche nel tubo in cui la proporzione tra siero e cultura era maggiore.

Circa il potere battericida, provato tanto con culture sporificate che con bacilli non sporificati i risultati furono i seguenti:

MATERIALE SEMINATO	COLONIE SVILUPPATE		
Cmc. 0. 10 di emulsione di cultura sporificata . .	28,340	26,489	27,340
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 0. 10 di siero.	15,340	14,210	13,502
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 0 50 di siero.	3,460	4,208	3,127
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 1 di siero . .	1,930	2,045	1,883

MATERIALE SEMINATO	COLONIE SVILUPPATE		
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso diluito . . .	10,340	12,421	11,346
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso + cmc. 0. 10 di siero.	6,392	5,937	4,998
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso + cmc. 0. 50 di siero.	997	1,120	845
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso + cmc. 1 di siero.	320	298	389

Il metodo usato fu identico a quello usato avanti ed anche qui si può subito far notare che col trattamento indicato, *il siero della cavia se acquista un potere agglutinante notevole, non acquista però un potere battericida.*

***

A questo punto ho voluto vedere se, mettendo in contatto il liquido contenente i leucociti disgregati con i bacilli del carbonchio e poi inoculando questo materiale nelle cavie, si ottenessero risultati migliori, in riguardo all'azione battericida, tanto più che esperimenti analoghi fatti in questo istituto dal Casagrandi con l'estratto di milza avevano dimostrato di poter salvare le cavie dall' inoculazione di carbonchio non sporificato.

A tal uopo dopo aver raccolto dal peritoneo di 4 cavie una buona quantità di succo leucocitico ottenuto per mezzo dell'aleuronato di soda nel modo descritto innanzi, e dopo averlo sottoposto al gelo e disgelo, ho emulsionato il liquido con culture vive e virulente di carbonchio, facendola rimanere per due giorni circa nel termostato a 37°.

Filtrata la emulsione con una candela di Chamberland, inoculai il filtrato ottenuto nel peritoneo di una cavia. Dopo 24 ore dall'avvenuta inoculazione ho dissanguato nel modo solito la cavia saggiando poi il potere agglutinante e battericida del siero separatone.

Circa il potere agglutinante i risultati furono i seguenti:

Quantità di siero.	1	1	1	1	1
Quantità di cultura.	10	20	40	60	80
Agglutinamento	+	+	+	+	+

I risultati avuti circa il potere battericida con la emulsione di bacilli sporificati sono i seguenti:

MATERIALE SEMINATO	COLONIE SVILUPPATE		
Cmc. 0. 10 di emulsione di bacillo del carbonchio.	18,342	19,530	17,435
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 0. 10 di siero.	345	720	510
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 0. 50 di siero.	126	110	95
Cmc. 0. 10 di emulsione + cmc. 1 di siero. . .	73	109	94

I risultati ottenuti con i bacilli non sporificati sono i seguenti:

MATERIALE ADOPERATO	COLONIE SVILUPPATE		
Cmc. 0 10 di sangue carbonchioso diluito . . .	8,179	10,431	9,348
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso diluito + cmc. 0 10 di siero.	0	0	0
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso diluito + cmc. 0. 50 di siero.	0	0	0
Cmc. 0. 10 di sangue carbonchioso diluito + cmc. 1 di siero	0	0	0

Dai quali esperimenti risulta *ch' è possibile conferire al siero di sangue di cavia oltre che un potere agglutinante, anche un potere decisamente battericida sul bacillo del carbonchio non sporificato.*

***

Sicchè riassumendo dal complesso delle esperienze possiamo concludere che:

1. Inoculando in cavie i prodotti del disfacimento dei leucociti provenienti da animali della stessa specie si conferisce al siero di sangue un notevole e fisso potere agglutinante sul bacillo del carbonchio: non si riesce però a conferire al siero un potere battericida.

2. Inoculando invece in cavie il filtrato dei prodotti leucocitici dopo tenuti a contatto con culture virulente di carbonchio si riesce a far acquistare al siero di sangue delle cavie, proprietà agglutinanti e battericide sul bacillo del carbonchio non sporificato.

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA

Sulla trasformazione della resistenza artificiale non specifica di Pfeiffer in immunità artificiale verso il colera e la peste

Ricerche del dott. **MICHELE MASI**.

Studi abbastanza recenti in rapporto all'immunità avevano dimostrato che iniettando ad animali, recettivi verso determinate infezioni, alcune speciali sostanze, questi animali resistevano all'inoculazione d'una dose assolutamente mortale di certi virus.

Dal Nolf (1) e dal Müller (2) sono stati sperimentati, sotto questo punto di vista, il peptone, l'aleuronato, il brodo sterile, il siero. Recentemente il Wassermann (3) studiando il fenomeno in rapporto ai sieri emolitici, ha potuto constatare riguardo al meccanismo d'azione di tali sostanze, che l'aumento dei complementi non si osserva certamente nei sieri degli animali salvatisi. Egli prese le mosse in questi esperimenti dal fatto che il siero normale di vitello dissolve il sangue di cavia. Ehrlich e Morgenroth avevano dimostrato che il complemento emolitico della cavia si adatta al corpo immunizzante esistente nel siero di vitello e che però il siero inattivato di vitello viene riattivato per aggiunta di siero fresco di cavia. Trattando adunque

(1) Annales de l'Institut Pasteur, 1900.
(2) Centralblatt für Bakteriologie, 1901.
(3) Zeitschrift für Hygiene, 1901.

le emazie di cavia con siero di vitello inattivo, ed aggiungendovi come complemento una sufficiente quantità di siero fresco di cavia, il sangue di cavia, mediante il corpo immunizzante del vitello, si dissolve nel proprio complemento. Determinò la quantità di siero fresco di diverse cavie, necessaria per riattivare un determinato volume di siero inattivo di vitello: a queste cavie inoculò poi per via intraperitoneale siero normale in modo da renderle resistenti al tifo: determinò novellamente la quantità di complemento, mediante riattivazione del siero inattivo di vitello e *non potè mai trovare aumento di complemento.*

A parte però questo, è indubitato che inoculando le sostanze indicate dal Nolff e dal Müller, un aumento di resistenza all'infezione si ottiene negli animali, ed il Wassermann stesso non potè sconoscere tale fatto, soltanto lo considerò non già come un fenomeno d'immunità generale, ma come un fenomeno d'immunità locale che si può ottenere con diverse sostanze.

Prendendo infatti in esame le ricerche fatte dall'Issaeff (1) per produrre un aumento di resistenza negli animali con l'inoculazione di diverse sostanze chimiche, si trova che le sostanze le quali hanno più intensa azione immunizzante sono quelle che posseggono molecole azotate più complicate, le quali quindi debbono essere digerite prima di essere assorbite.

Tali sostanze sono: la tubercolina, le soluzioni di nucleine, il siero di sangue umano, il brodo, l'urina, la soluzione fisiologica di cloruro di sodio.

E poichè queste sostanze non determinano un aumento generale dei complementi, ma pure permettono all'animale di resistere all'infezione, purchè il virus s'inoculi nel peritoneo dove è stata fatta l'inoculazione preventiva delle sostanze suindicate, così è logico ritenere, per dirla col Wassermann, che la resistenza artificiale accresciuta non è altro che un affluire attivo e più intenso di complementi in un punto dell'organismo ed è perfettamente analoga all'aumento passivo di complementi di una parte del corpo, ad esempio per impedito deflusso di sangue venoso.

Stando a tal punto la questione, parvemi di molto interesse studiare questo fenomeno di resistenza locale in rapporto al colera ed alla peste.

A tal uopo mi proposi di risolvere i seguenti quesiti:

1. Se fosse possibile provocare nelle cavie la resistenza artificiale non specifica, nel senso di Pfeiffer, verso il colera e la peste con l'inoculazione nel peritoneo di essudati.

2. Se fosse possibile trasformare l'ottenuta resistenza artificiale in un'immunità artificiale verso il colera e la peste.

3. Se dal punto di vista della vaccinazione e della sieroterapia verso il colera e la peste, questo metodo d'immunizzazione potesse essere preso in considerazione.

---

(1) Cit. da Wassermann.

Provocazione della resistenza artificiale non specifica.

Invece di ricorrere alle sostanze azotate con molecole più o meno complicate, come aveva fatto l'Issaeff, pensai di servirmi d'un prodotto analogo a quello escogitato dal Nolf e dal Muller, e cioè dell'inoculazione di sostanze le quali aumentassero i leucociti. Ed a ciò fui indotto dal fatto dell'oramai acquistata conoscenza, che dai leucociti si originano in massima parte le alessine.

La sostanza di cui mi servii per ottenere i leucociti, ed alla quale hanno ricorso l'Issaeff, ed in seguito una serie di autori, fu l'aleuronato. Però invece di servirmi dell' aleuronato così come si trova in commercio, preferii adoperare una soluzione alcalina di legumina, giacchè come ben notò il Rem-Picci, gli aleuronati del commercio producono spesso dei disinganni, ed il procedimento indicato dal Colard per ottenerli puri non è che quello per ottenere la legumina.

Adoperai quindi il procedimento adottato dal Rem-Picci, che è quello usato in questo istituto, cioè:

Agitai 10 grammi di legumina Merck con una soluzione di potassa al 0,5 °/₀ (cmc. 150). Lasciai il miscuglio per 4 ore in stufa a 37° C. Il liquido così ottenuto lo filtrai per parecchi filtri a pori larghi, contemporaneamente, ed al filtrato aggiunsi una soluzione diluitissima di acido cloridrico finchè si produsse precipitato. Dopo breve riposo filtrai, sempre con filtro a pieghe ed a pori larghi, e lavai il precipitato sul filtro con poca acqua. Il precipitato con tutti i filtri, premuti prima leggermente con la mano tra carta bibula, spappolai in 150 cmc. di acqua distillata, aggiungendovi qualche goccia di soluzione di potassa normale ed agitando. Scomparso il precipitato per soluzione, aggiunsi un pizzico di carbone animale, e passai il matraccio rapidamente sulla fiamma in modo che la temperatura non oltrepassasse i 37° C. Dopo agitazione lasciai il miscuglio per mezz'ora in riposo, e finalmente filtrai attraverso un sol filtro a pieghe.

Iniettai quindi nel cavo peritoneale di 10 cavie, del peso di circa 300 grammi ciascuna, 10 cc. della soluzione di legumina e dopo 8 ore dalla fatta inoculazione, estrassi con tutte le cautele antisettiche dal peritoneo un liquido giallo cetrino, filante, nel quale l'esame microscopico confermò l'esistenza di numerosissimi leucociti.

Questo materiale fu quello che mi servì per provocare la resistenza artificiale in altre cavie.

Invece però d'inocularlo tal quale, lo sottomisi al procedimento

in seguito al quale si può ottenere la distruzione dei leucociti e la liberazione dei complementi degli stessi.

A tal uopo non ricorsi a sostanze chimiche, ma semplicemente all'azione del freddo. Gelai e disgelai parecchie volte il liquido fino a che l'esame microscopico mi convinse della distruzione quasi totale dei leucociti.

Che questo materiale fosse dotato del potere di aumentare la resistenza degli animali non poteva esservi dubbio.

Infatti le cavie che furono inoculate nel peritoneo con i leucociti così ricavati, iniettate successivamente nella stessa cavità con dosi di brodocultura colerigena, certamente mortale, si salvarono dall'infezione.

Rimaneva però da vedere se praticando l'inoculazione del virus in altro sito, che non fosse quello stesso in cui il materiale immunizzante era stato inoculato, gli animali si salvassero.

A tal uopo praticai l'inoculazione del liquido leucocitico nel cavo peritoneale e dopo 48 ore procedetti all'inoculazione sottocutanea di una dose certamente mortale di coltura colerigena.

Gli animali, al contrario dei precedenti, non resistettero all'inoculazione.

Reputai inutile di estendere le ricerche in questo senso al bacillo della peste, parendomi logico che esse, nel caso più favorevole, mi avrebbero condotto a risultati analoghi.

Del resto si sa che è estremamente difficile di aumentare i complementi normali degli organismi, o almeno che noi ancora non possediamo i metodi adatti per ottenerli.

Del resto il Wasserman, che ha tentato di aumentare con altri procedimenti i complementi e precisamente con gli anticomplementi, ha finito anche egli per concludere che nelle cavie trattate per settimane con gli anticomplementi non si può constatare aumento evidente e costante dei loro complementi.

Concludendo quindi, le inoculazioni degli estratti leucocitiei di animali sani, se aumentano la resistenza locale all'inoculazione dei virus, non ne aumentano la resistenza generale. Ciò che in altri termini significa che essi non provocano che la resistenza artificiale non specifica nel senso di Pfeiffer (1).

---

(1) Tentai anche di ottenere leucociti dal cavo peritoneale di cavie inoculandole con le culture di colera virulento, e raccogliendo il liquido endoperitoneale dopo 8 ore. Ma, tale liquido, gelato e disgelato e centrifugato per privarlo dei germi, si è dimostrato inadatto a salvare le cavie dall'infezione colerigena.

Trasformazione della resistenza non specifica di Pfeiffer in immunità artificiale.

I risultati delle ricerche precedenti mi persuasero della impossibilità, seguendo il metodo indicato, di poter ottenere un'immunità artificiale, servendomi del solo liquido leucocitico fornito dagli organismi sani.

In un lavoro precedente il Casagrandi (1) aveva dimostrato che gli estratti degli organi più fortemente ricchi di leucociti, in presenza di certi germi patogeni, specie se tenuti alla temperatura del corpo (37° C.) inoculati negli animali, inducevano nel siero dei medesimi delle proprietà battericide notevoli, le quali si legavano d'altro canto ad un'immunità acquisita artificiale e che un metodo di immunizzazione sul quale pareva potersi contare, consisteva nel servirsi del liquido che si otteneva filtrando allo Chamberland l'estratto leucocitico che aveva agito sui germi.

Pensai allora di fare agire il liquido leucocitico sui vibrioni del colera e sui bacilli della peste, e di servirmi poi del materiale estratto per immunizzare gli animali verso i germi stessi. A tal uopo inoculai delle cavie con la soluzione di legumina, ricavai i leucociti dal loro cavo peritoneale, disgregai i leucociti col gelo e disgelo, e nel liquido leucocitico emulsionai 3-4 patine fresche sviluppatesi su agar di vibrioni colerigeni virulenti e in quello ottenuto da altre cavie emulsionai 3-4 patine fresche del pari sviluppatesi su agar di bacilli della peste pur virulenti. Il materiale posi nel termostato a 37° c. per 24 ore.

Trascorso questo tempo, esaminai al microscopio i germi posti nel liquido e potei constatare che essi erano plasmolizzati ed in parte bacteriolizzati.

Il corpo bacterico era molto ingrossato, uniformemente colorabile col bleu di Löffler, ma il contorno si presentava sfumato, e si notavano anche forme rotonde, scolorite. I germi non si trovavano isolati ma aggruppati, e questo fatto potei constatare essere dovuto al potere spiccatamente agglutinante del liquido leucocitico.

Difatti mescolando una goccia di brodocoltura dei rispettivi germi di 24 ore, con una goccia del liquido leucocitico e poi facendo preparati a goccia pendente, i germi si univano immediatamente in ammassi.

---

(1) Questi Annali, questo fascicolo.

In seguito aggiunsi al liquido piccola quantità di cloroformio e lo tenni a 37° per altre 48 ore, dopo di che lo filtrai allo Chamberland.

Volendo accertarmi per quale via i liquidi filtrati esplicassero con maggiore intensità la loro azione preventiva, praticai in alcune cavie inoculazioni degli stessi liquidi nel connettivo sottocutaneo: in altre nel peritoneo; ed in altre nel peritoneo e nel sottocutaneo contemporaneamente.

Le inoculazioni dei liquidi le ripetei sino a che il peso degli animali non mostrò subire alcuna oscillazione. La quantità di liquido iniettata fu in proporzione di 1 c. c. per ogni 100 grammi in peso degli animali.

Dopo 48 ore dall'ultima iniezione di liquido praticai le inoculazioni di brodocolture colerigene in dosi certamente mortali, avendo cura di non scegliere per sito di inoculazione quello stesso che avevo scelto per inoculare il filtrato, e propriamente inoculai il virus nel sottocutaneo quando l'inoculazione del filtrato era stata fatta nel peritoneo, e l'inoculai nel peritoneo quando l'inoculazione del filtrato era stata fatta nel sottocutaneo. Naturalmente quelle cavie che erano state trattate col filtrato sia nel peritoneo, sia sotto cute, vennero inoculate di virus in ambedue i siti.

Va da sè che lo stesso procedimento seguii per gli esperimenti sul bacillo della peste.

Riporto nelle seguenti tabelle i risultati degli esperimenti:

TABELLA I. — *Azione preventiva del filtrato verso i vibrioni colerigeni.*

Numero delle cavie	Peso in grammi	Liquido filtrato			Brodocultura di colera			Esito dopo 25 giorni dall'ultima inoculazione
		Quantità inoculata in cmc.	Sito dell'inoculazione	Numero delle inoculazioni	Quantità inoculata in cmc.	Sito dell'inoculazione	Numero dell'inoculazioni fatte con l'intervallo di 30 giorni l'una dall'altra	
1	280	2. 80	sotto cute	2	2	nel peritoneo	3	vive ancora
2	300	3. 00	id.	2	2	id.	3	id.
3	300	3. 00	id.	2	2	id.	3	id.
4	290	2. 90	id.	2	2	id.	3	id.
5	275	2. 75	nel peritoneo	2	1. 50	sotto cute	3	id.
6	285	2. 85	id.	2	1. 50	id.	3	id.
7	340	3. 40	id.	3	2. 50	id.	3	id.
8	330	3 30	id.	3	2	id.	3	id.
9	350	3. 50	sotto cute nel peritoneo	3	2. 50	nel peritoneo sotto cute	3	id.
10	400	4	id.	2	3	id	3	id.
11	290	2. 90	id.	2	1 50	id.	3	id.
12	320	3 20	id.	2	2	id.	3	id.

Durante questo esperimento venne saggiata la virulenza delle brodocolture di colera, inoculandole in cavie di diverso peso.

I risultati sono i seguenti:

I. Cavia del peso di grammi 300, inoculata con 2 c. c. di brodocolture di colera nel sottocutaneo. Muore dopo 36 ore presentando il seguente quadro anatomo-patologico: Edema copioso siero sanguinolento nel connettivo sottocutaneo, zeppo di vibrioni; iperemia dei vari organi, versamento lieve nelle cavità sierose, milza ingrandita;

II. Cavia del peso di grammi 360, inoculata con c. c. 2.50 di brodocoltura di colera nel peritoneo. Muore dopo 48 ore presentando il seguente quadro anatomo-patologico: Peritonite siero fibrinosa; milza piccola; fegato nerastro; cuore con sangue coagulato. Il liquido endoperitoneale è ricchissimo di vibrioni, moltissimi se ne trovano nella milza;

III. Cavia del peso di grammi 420, inoculata nel sottocutaneo e nel peritoneo contemporaneamente con c. c. 3 di brodocolture di colera. Muore dopo 39 ore presentando all'autopsia lo stesso quadro anatomo-patologico descritto per le cavie n. I e II.

Tabella II. — *Azione preventiva del filtrato verso i bacilli della peste.*

Numero delle cavie	Peso in grammi	Liquido filtrato			Brodocoltura di peste			Esito dopo 25 giorni dall'ultima inoculazione
		Quantità inoculata in cmc.	Sito dell' inoculazione	Numero delle inoculazioni	Quantità inoculata in cmc.	Sito dell' inoculazione	Numero dell' inoculazioni fatte con l'intervallo di 30 giorni l'una dall'altra	
1	295	2.95	sotto cute	2	1	3	nel peritoneo	vive ancora
2	310	3.10	id.	2	1	3	id.	id.
3	300	3	id	2	1	3	id.	id.
4	380	3.80	id.	3	1.50	3	id.	id.
5	360	3 60	nel peritoneo	3	1.50	3	sotto cute	id.
6	280	2 80	id.	2	1	3	id	id.
7	400	4	il.	3	2	3	id.	id.
8	290	2.90	id.	2	1	3	id.	id.
9	315	3 15	sotto cute nel peritoneo	3	1	3	nel peritoneo sotto cute	id.
10	320	3.20	id	2	1	3	id.	id.
11	365	3 65	id.	3	1.50	3	id.	id.
12	370	3.70	id.	3	2	3	id.	id

Durante questo esperimento venne saggiata la virulenza delle brodocolture di peste, inoculandole in cavie di diverso peso. I risultati sono i seguenti:

I. Cavia del peso di grammi 300, inoculata con 1 c. c. di brodocoltura di peste nel peritoneo.

Muore dopo 30 ore presentando il seguente quadro anatomo-patologico.

Manifesto ingorgo delle glandole sottocutanee; rete venosa sottocutanea evidentissima; versamento siero emorragico nei cavi pleurici e nella cavità peritoneale molto abbondante; fegato impiccolito con incipiente degenerazione grassa; reni pallidi, anemici, facilmente spappolabili, molli; glandole mesenteriche ingorgate; milza piccola e molle; polmoni anemici: cuore piccolo con le cavità ripiene di coaguli sanguigni. Gran numero di germi nel sottocutaneo, abbondantissimi nei liquidi pleurici e peritoneale, nella milza e nel fegato; scarsi nel sangue;

II. Cavia del peso di grammi 365, inoculata con c. c. 1.50 di brodocoltura di peste nel sottocutaneo. Muore dopo 48 ore presentando lo stesso quadro anatomo-patologico della cavia n. I, tranne un ingorgo maggiore delle glandole sottocutanee, e la presenza di chiazze emorragiche nel sito di inoculazione;

III. Cavia del peso di grammi 400 inoculata con c. c. 2 di brodocolture di peste nel sottocutaneo e nel peritoneo contemporaneamente. Muore dopo 24 ore presentando all'autopsia le stesse lesioni descritte per le cavie n. I e n. II.

Dalle tabelle precedenti si ricava quindi che il liquido leucocitico, innanzi descritto, esplica un'evidente azione *vaccinante* nelle cavie in rapporto al colera ed alla peste.

Ma vi ha di più; esso esplica anche un'azione *curativa,* almeno nell'infezione colerica, alla quale ho diretto peculiarmente le mie ricerche.

Infatti, inoculando le cavie di brodocolture colerigene in dosi certamente mortali, come lo dimostrarono le cavie di controllo. o sotto cute o nel peritoneo, e poi, dopo 12 ore, inoculandole con il filtrato in quantità di 5 c. c. ho potuto vedere che esse si salvarono dall'infezione colerigena.

Riporto nella seguente tabella i risultati ottenuti:

TAVOLA III. — *Azione curativa del liquido filtrato verso il colèra.*

Numero delle cavie	Peso in grammi	Sito dell'inoculazione delle brodocolture	Quantità di brodocoltura inoculata cmc.	Sito dell'inoculazione del liquido filtrato	Quantità del liquido inoculato cmc.	Esito
1	385	sotto cute	3	nel peritoneo	5	Vive ancora.
2	435	id.	3	id.	5	Id.
3	450	id.	3	id.	5	Id.
4	370	nel peritoneo	3	sotto cute	5	Id.
5	330	id.	3	id.	5	Id.
6	515	id.	3	id.	5	Id.
7	490	sotto cute nel peritoneo	3	nel peritoneo sotto cute	5	Id.
8	395	id.	3	id.	5	Id.
9	300	id.	3	id.	5	Id.

Durante questo esperimento venne saggiata la virulenza delle brodocolture di colera, inoculandole in cavie di diverso peso.

I risultati sono i seguenti:

I. Cavia del peso di grammi 400, inoculata con 3 c. c. di brodocoltura di vibrioni colerigeni nel sottocutaneo. Muore dopo 36 ore presentando all'autopsia lo stesso quadro anatomo-patalogico descritto innanzi;

II. Cavia del peso di grammi 350, inoculata con 3 c. c. di brodocultura di vibrioni colerigeni nel peritoneo. Muore dopo 48 ore presentando all'autopsia gli stessi caratteri descritti innanzi;

III. Cavia del peso di grammi 525, inoculata con 3 c. c. di brodocoltura di vibrioni colerigeni nel sottocutaneo e nel peritoneo contemporaneamente. Muore dopo 40 ore presentando all'autopsia lo stesso quadro anatomo-patologico descritto innanzi.

Importanza della trasformazione della resistenza artificiale in immunità acquisita per la produzione dei vaccini e dei sieri nel colera (1).

Per rispondere al terzo quesito propostomi, cioè, se dal punto di vista della vaccinazione e della sieroterapia verso il colera e la peste, questo metodo d'immunizzazione potesse essere preso in con-

(1) Limitai tali ricerche al vibrione colerigeno, non potendo, attesa l'ubiquità dell'Istituto, sperimentare a lungo in riguardo alla peste, trattandosi di esperimenti per cui necessitavano molti animali, e quindi precauzioni speciali per non diffondere il contagio.

siderazione, occorreva studiare le proprietà dei sieri degli animali sottoposti all'inoculazione del liquido filtrato. E ciò per vedere se realmente si fosse ottenuto in essi, seguendo il procedimento sopradetto, non già una resistenza nel senso di Pfeiffer, ma addirittura una immunità artificiale.

A tale scopo studiai le proprietà agglutinanti, battericide, preventive e curative dei sieri delle cavie, trattate secondo il metodo da me indicato.

Tabella IV.

Potere agglutinante				Potere battericida			
Siero di cavia sana verso		Siero di cavie immunizzate verso		Siero di cavia sana verso		Siero di cavie immunizzate verso	
il colera	la peste	il colera	la peste	il colera	la peste	il colera	la peste
1 : 25	1 : 5	1 : 50	1 : 40	12900	970	3	1
1 : 15	1 : 10	1 : 40	1 : 40	45000	7801	0	0
1 : 30	neg.	1 : 50	1 : 50	92000	2304	2	0

TABELLA V. — *Azione pveventiva del siero di cavie immunizzato.*

Numero delle cavie	Peso in grammi	Sito dell' inoculazione del siero	Quantità di siero inoculata cmc.	Sito delle inoculazioni di brodocolture	Quantità di brodocolture inoculate cmc.	Numero delle inoculazioni di brodocolture ripetute ogni 15 giorni	Esito dopo 10 giorni dall'ultima inoculazione
1	350	sotto cute	5	sotto cute	3	4	vive ancora
2	380	id.	5	id.	3	4	id.
3	400	id.	5	id	3	4	id.
4	415	id.	5	id.	3	4	id.
5	460	id.	5	nel peritoneo	3	4	id.
6	300	id.	5	id.	3	4	id.
7	290	id.	5	id.	3	4	id.
8	315	id.	5	id.	3	4	id.
Cavie di controllo							
I	300	..	..	sotto cute	3	..	morta dopo 36 ore
II	395	..	..	nel peritoneo	3	..	morta dopo 48 ore

TABELLA VI. — *Azione curativa del siero di cavie immunizzate.*

Numero delle cavie	Peso in grammi	Sito delle inoculazioni delle brodocolture	Quantità di brodocoltura inoculata cmc.	Sito delle inoculazioni di siero	Quantità di siero inoculato cmc.	Esito
1	330	sotto cute	3	sotto cute	3. 30	Vive ancora.
2	360	id.	3	id.	3.60	Id.
3	400	id.	3	id.	4	Id.
4	295	id.	3	id.	2.95	Id.
5	300	nel peritoneo	3	id.	3	Id.
6	315	id.	3	id.	3 15	Id.
7	425	id.	3	id.	4. 25	Id.
8	450	id.	3	id.	4. 50	Id.
Cavie di controllo						
I	395	sotto cute	3	..	..	Morta dopo 36 ore.
II	470	nel peritoneo	3	..	..	Morta dopo 48 ore.

Come risulta dagli esperimenti elencati nelle tabelle precedenti, accanto alle sostanze che fanno assumere ai sieri delle cavie, trattate col liquido leucocitico, un potere agglutinante e battericida, si producono negli stessi sieri altre sostanze che hanno la proprietà di esplicare azione preventiva e curativa verso l'infezione colerica.

Difatti tutte le cavie inoculate nel sottocutaneo con 5 c. c. di siero (proveniente da cavie che avevano subito ripetute inoculazioni del filtrato fino a non presentare oscillazioni di peso) resistettero alle inoculazioni di dosi mortali di brodocolture colerigene sia che fossero praticate nel sottocutaneo, sia nel peritoneo, mentre le cavie di controllo fra 36 e 48 ore morirono.

E che tali cavie si potessero ritenere immunizzate è dimostrato dal fatto che finora hanno potuto sopportare l'inoculazione di brodocolture virulenti, ogni 15 giorni, senza morire.

Ma vi ha di più, i sieri hanno anche proprietà curative, poichè le cavie inoculate nel sottocutaneo o nel peritoneo con dosi mortali di virus, trattate dopo 12 ore dall'avvenuta inoculazione con 1 c. c. di siero per 100 grammi d'animale in peso, sopravvissero all'infezione, mentre le cavie di controllo morirono fra 36-48 ore.

Ora a ben considerare i risultati precedenti dal punto di vista pratico della vaccinazione e della sieroterapia, ne emerge che nelle cavie è possibile trasformare la resistenza artificiale in una vera e propria immunità verso il colera.

Il liquido leucocitico filtrato che ha agito sul vibrione colerigeno (e così quello che ha agito sul bacillo della peste) agisce anzitutto da vaccino e mostra, inoculato durante l'infezione colerigena, delle proprietà curative.

In secondo luogo esso possiede delle proprietà decisamente immunizzanti, poichè col suo mezzo si riesce a provocare nei sieri delle cavie la produzione di sostanze non solo preventive, ma anche curative.

Dal complesso quindi delle mie esperienze risulta chiaramente che trattando in vitro sia il vibrione del colera, sia il bacillo della peste secondo i procedimenti da me indicati, si ottiene un liquido che passa attraverso la candela porosa di Chamberland, e che ha azione preventiva e curativa verso il colera, preventiva verso la peste, e che il procedimento indicato deve essere classificato fra quelli con i quali è possibile ottenere un vaccino anticolerico ed antipestoso.

Dato poi l'aumento considerevole delle agglutinine, dei complementi, nonchè delle sostanze immunizzanti in genere, è lecito sperare che esso possa servire per ottenere sieri preventivi e curativi.

Conclusioni.

1. È possibile ricavare da essudati sterili un liquido il quale aumenta la resistenza locale verso l'infezione colerica e pestosa.

2. Il fenomeno che si produce ha relazione intima con la così detta resistenza artificiale non specifica di Pfeiffer: difatti non è possibile rendere immuni gli animali così trattati dall'infezione colerica e pestosa, inoculando i germi in luoghi diversi dal sito d'inoculazione preventiva.

3. Si può, trattando i vibrioni del colera ed i bacilli della peste con liquido leucocitico ottenere una sostanza che passa attraverso la candela porosa di Chamberland e che rende immuni gli animali dall'inoculazione dei virus, qualunque sia la via d'innesto: tale sostanza quindi può servire da vaccino.

4. Si può dimostrare che in questo caso la resistenza artificiale non specifica si trasforma in un'immunità artificiale per le proprietà agglutinanti, battericide, immunizzanti e curative che vengono impartite ai sieri degli animali immunizzati.

227699



